CAB INTERNATIONAL
MYCOLOGICAL INSTITUTE
LIBRARY

IMI \ Books / PLA

IMPERIAL BUREAU
5 NOV. 1924
OF MYCOLOGY

Série A n° 350
N° d'ordre
1015.

THÈSES

PRÉSENTÉES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

POUR OBTENIR

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES NATURELLES

PAR

M. Louis PLANCHON

1re THÈSE. — Botanique : influence de divers milieux chimiques sur quelques champignons du groupe des dématiées.

2e THÈSE. — Propositions données par la faculté.

Soutenues le 22 Février devant la Commission d'examen

MM. BONNIER ..... *Président.*
VÉLAIN ..... } *Examinateurs.*
J. CHATIN ..... }

PARIS
MASSON ET Cie, ÉDITEURS
LIBRAIRES DE L'ACADÉMIE DE MÉDECINE
120, boulevard Saint-Germain, en face de l'École de Médecine

1900

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

MM.

Doyen	Gaston DARBOUX, *Professeur*.	Géométrie supérieure.
Professeur honoraire	CH. HERMITE.	
Professeurs	DE LACAZE-DUTHIERS.	Zoologie, Anatomie, Physiologie comparée.
	TROOST	Chimie.
	LIPPMANN	Physique.
	HAUTEFEUILLE	Minéralogie.
	BOUTY	Physique.
	APPELL	Mécanique rationnelle.
	DUCLAUX	Chimie biologique.
	BOUSSINESQ	Physique mathématique et Calcul des probabilités.
	PICARD	Analyse supérieure et Algèbre supérieure.
	H. POINCARÉ	Astronomie mathématique et Mécanique céleste.
	Y. DELAGE	Zoologie, Anatomie, Physiologie comparée.
	Gaston BONNIER	Botanique.
	DASTRE	Physiologie.
	DITTE	Chimie.
	MUNIER-CHALMAS	Géologie.
	GIARD	Zoologie, Évolution des êtres organisés.
	WOLF	Astronomie physique.
	KOENIGS	Mécanique physique et expérimentale.
	VÉLAIN	Géographie physique.
	GOURSAT	Calcul différentiel et calcul intégral.
	CHATIN	Histologie.
	PELLAT	Physique.
	HALLER	Chimie organique.
Professeurs adjoints	PUISEUX	Mécanique et Astronomie.
	RIBAN	Chimie analytique.
	RAFFY	Analyse et mécanique.
Secrétaire	FOUSSEREAU.	

A

M. GASTON BONNIER

MEMBRE DE L'INSTITUT

PROFESSEUR A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

A

M. L. MATRUCHOT

MAITRE DE CONFÉRENCES

A LA FACULTÉ DES SCIENCES DE PARIS

INFLUENCE DE DIVERS MILIEUX CHIMIQUES

SUR QUELQUES

CHAMPIGNONS DU GROUPE DES DÉMATIÉES

Par M. Louis PLANCHON.

INTRODUCTION

Les solutions chimiques ou pharmaceutiques, conservées quelque temps dans les laboratoires, contiennent souvent des végétations d'aspect nuageux ou floconneux, blanches ou diversement colorées, mais d'ordinaire de teinte brunâtre.

Ces flocons ou ces dépôts fragmentés existent même dans des solutions toxiques. Les premiers observateurs n'avaient vu dans ces productions que le résultat d'altérations chimiques. Pour les eaux distillées, par exemple, ils pensaient qu'on avait affaire à une transformation de l'essence en mucilage. A plusieurs reprises, ces végétations anormales ont attiré l'attention, et la nature organisée en a bientôt été démontrée. Soubeiran (1) dit nettement dans son traité de pharmacie que ce sont « des globules organisés qui semblent être des végétaux mycodermiques dont les germes ont très probablement l'air pour véhicule ». D'autres (Bia-

(1) Soubeiran, *Traité de pharmacie* Éd., 1875, t. II, p. 300.

soletto (1), etc.), y avaient vu des algues. La végétation des liqueurs arsenicales fut nommée par Brébisson *Hygrocrocis arsenicus;* Marchand, qui l'étudia de 1875 à 1878, y reconnut par ses cultures un champignon du groupe des *Dématiées*, et en donna la description détaillée (2). Depuis lors on a rapporté ces plantes à des genres ou à des espèces diverses, mais tantôt en considérant toutes les végétations comme des formes d'une seule espèce, tantôt inversement en attribuant à chaque solution chimique une espèce particulière (3).

Ni l'une ni l'autre de ces deux opinions extrêmes ne pouvait être exacte. L'idée de rapporter à des espèces ou à des genres particuliers les formes parfois étranges, en tout cas très diverses, que l'on rencontre dans ces conditions, doit être absolument abandonnée. Il est vrai que les aspects variés qu'une même espèce prend sous l'influence d'un milieu chimique souvent énergique, comme les solutions arsenicales ou cupriques, s'écartent parfois si complètement du type primitif, que les premiers observateurs devaient sans hésiter y voir des végétaux nouveaux. Mais depuis lors les recherches sur le polymorphisme des champignons et surtout la méthode si féconde des cultures en milieux stérilisés ont montré, dans ces formes absolument différentes d'aspect, des états successifs, nécessaires ou non, du même végétal. Déjà dans la nature, nous voyons ces êtres, essentiellement plastiques, modifier la forme de leur appareil végétatif et même leur mode de fructification, en s'adaptant aux conditions extérieures où ils se trouvent. A fortiori, lorsque le changement du substratum sera profond,

(1) Biasoletto, *Di alcune Alghe microscopiche*. Trieste, 1832.

(2) Marchand, *Organisation et nature de l'Hygrocrocis arsenicus* (C. R. Acad. des Sc., 11 nov. 1878). Fig. *in Botanique cryptogamique*.

(3) Voyez encore sur ce sujet parmi les publications les plus récentes : Barnouvin, *Organismes des hydrolats et des solutés* (Thèse de Pharm. supér., Paris, 1896). — Guéguen, *Recherches sur les organismes mycéliens des solutions pharmaceutiques. Études biologiques sur le Penicillium glaucum* (Bull. Soc. mycol. de France, 1898-1899). — Beauverie, *Hygrocrocis et Penicillium glaucum* (Bull. de la Soc. bot. de Lyon, 11 mai 1899).

les changements correspondants seront plus évidents.

L'étude de ces plantes, placées ainsi dans des conditions anormales, peut tenter les chercheurs à bien des égards. Le praticien ou le chimiste, par exemple, trouveront certainement dans des recherches sur les liquides, avant et après le développement du champignon, le sujet de travaux de haut intérêt. Mais à côté de l'action du champignon sur le milieu, il y a l'action du milieu sur le champignon, et il m'a semblé que l'étude botanique de quelques espèces soumises à des influences déterminées, pouvait offrir de l'intérêt et peut-être donner la solution de certains problèmes morphologiques.

Il m'a paru que ce polymorphisme, si souvent signalé, méritait d'être vu d'un peu plus près, et qu'il serait utile d'appliquer les méthodes scientifiques actuelles aux recherches sur ce groupe singulier de végétaux. Non pas que ces méthodes n'eussent déjà été utilisées dans ce sens, mais les observations n'ayant jamais porté que sur des points de détail, des conclusions plus générales sortiraient sans doute d'un travail d'ensemble. En outre, certaines espèces pourraient se rencontrer chemin faisant, dont l'étude spéciale serait utilement approfondie. Poussé dans cette voie par M. Gaston Bonnier, à qui le sujet paraissait devoir être fécond, aidé des excellents et judicieux conseils de M. Matruchot, dont la compétence en ces matières a été largement mise à profit par moi, j'ai poursuivi pendant plus de deux années mes recherches sur ce sujet (1).

La morphologie pure n'est d'ailleurs pas le seul point de vue auquel je me suis placé. J'ai trouvé aussi l'occasion d'élucider quelques points concernant soit la structure, soit le mode de développement, soit la valeur morphologique

(1) Ces recherches ont été faites en partie dans le laboratoire de botanique de la Sorbonne, en partie à l'École supérieure de pharmacie de Montpellier. Pour ces expériences multiples, longues et minutieuses, M. O. Blaufus, préparateur à cette École, n'a cessé de m'apporter son aide intelligente et dévouée. C'est pour moi un devoir et un plaisir de l'en remercier ici.

des organes végétatifs ou reproducteurs, de saisir divers termes de passage entre des éléments paraissant d'ordinaire très distincts, de constater de singuliers phénomènes de convergence entre des espèces fort éloignées et cultivées sur un même milieu, etc., etc.

Tous ces faits trouveront place, soit dans les résultats généraux, soit dans l'étude détaillée de quelques espèces.

Ce travail se divise donc naturellement en deux parties :

1° Partie générale : exposé de la méthode suivie, résultats, conclusions générales de l'étude des groupes.

2° Partie spéciale : étude d'un groupe de Dématiées plus particulièrement intéressantes, et se rapprochant par des modifications analogues bien que spéciales à chacune d'elles.

L'action générale de chaque milieu sur l'ensemble des champignons en expérience sera résumée ensuite dans un chapitre spécial.

PARTIE GÉNÉRALE

Il est évident que les flacons des laboratoires ou des pharmacies, ouverts à tout instant sans aucune précaution de stérilisation ou d'asepsie et contenant des solutions faites au moyen d'eau non bouillie, doivent être ensemencés par les germes contenus soit dans l'eau elle-même, soit dans l'air ambiant; or les plus fréquents de ces germes sont aussi les plus résistants : il fallait donc s'attendre, en commençant l'étude de ces organismes, à rencontrer les moisissures les plus communes ; l'intérêt de ces recherches devait résider moins dans la connaissance de cette flore spéciale, que dans l'étude des modifications morphologiques dues aux agents chimiques, et dans l'examen des changements que la forme normale de développement, de reproduction, et d'évolution biologique d'une espèce donnée, pouvait éprouver dans ces conditions.

La détermination précise de toutes les espèces trouvées n'a pas été faite. J'indiquerai cependant plus loin les genres que j'ai rencontrés le plus souvent dans mes recherches; cette énumération rapide montrera à la fois la variété et la banalité des champignons observés.

I. — MÉTHODE GÉNÉRALE

Le but poursuivi a été de pousser au maximum la variabilité naturelle de certaines espèces, et de chercher si des formes en apparence très analogues ne proviendraient pas d'espèces différentes, tandis qu'une même plante prendrait les aspects les plus variés.

Une première série d'opérations, et non la moins longue, a consisté à séparer, par des procédés analogues à ceux de la bactériologie, les divers organismes vivant dans des solutions déterminées, et à les obtenir à l'état de culture pure sur un milieu donné, toujours le même.

Puis, parmi ces espèces, une vingtaine, appartenant à des groupes divers de moisissures, les unes très communes, d'autres plus rares, ont été choisies et semées dans une première série de milieux : leurs modifications extérieures et microscopiques ont été notées au bout de quelques jours, puis au bout d'un temps assez long (six à huit mois).

Enfin, l'étude plus approfondie encore et l'ensemencement dans une nouvelle série de milieux ont été faits sur quatre espèces, plus aptes que les autres à varier dans les conditions ci-dessus indiquées, et appartenant au même groupe de champignons. J'ai pu dès lors, sur ce nombre restreint, étudier de plus près les questions de dose, de concentration, faire agir des milieux nouveaux, contrôler et développer par ces recherches spécialisées les résultats acquis déjà par l'étude générale des vingt espèces primitivement choisies.

Il fallait aussi, et surtout, établir un contrôle rigoureusement scientifique et inattaquable : les formes obtenues étant très diverses, il importait de s'assurer toujours, pour chaque tube en expérience, que la forme qu'il contenait appartenait bien au champignon primitif. Pour cela j'ai choisi dès le début un milieu, toujours le même, préparé dans des conditions toujours identiques et servant à toutes les manipulations destinées à obtenir des cultures pures. Le mode de végétation spécial à ce milieu, noté avec soin pour chaque espèce, sert dès lors de type.

Avec cette culture se fait l'ensemencement sur les milieux. Puis, on sème sur le même *milieu-type* un fragment de la moisissure obtenue et la culture ne doit être considérée comme pure, la forme observée ne doit être décrite comme une forme authentique du champignon que lorsque cette

culture-contrôle s'est montrée identique à la *culture-type*. Le cercle évolutif étant ainsi fermé par le retour au point de départ, il semble que l'on puisse sans crainte se montrer affirmatif.

Une exception à cette règle peut cependant se présenter. Parfois, en effet, les milieux modifient assez la vitalité du champignon, pour que celui-ci, après avoir subi leur action, ne donne plus sur le milieu-type la culture-type, mais une culture différente (abondance ou absence de fructification, etc.). Dans ce cas, il convient de faire plusieurs cultures successives : l'on revient peu à peu au point de départ (1).

Telle est la méthode générale de travail adoptée. Mais, avant d'en indiquer les résultats, il est nécessaire de donner quelques détails sur la technique employée, en suivant une à une les opérations résumées ci-dessus.

II. — TECHNIQUE

1. — LIQUIDES ÉTUDIÉS

Lorsqu'on examine les flacons des laboratoires ou des pharmacies, on est frappé du nombre des solutions même toxiques envahies par des moisissures d'aspect varié, immergées ou flottantes, étalées à la surface ou en dépôt au fond, adhérentes à la paroi au-dessus ou au-dessous du liquide, ou en membranes d'épaisseur diverse.

La couleur en est ordinairement brunâtre, rougeâtre ou verdâtre plus ou moins foncée, ailleurs tout à fait blanche, et alors soit opaque, soit presque transparente. L'ensemble est le plus souvent filamenteux, enchevêtré, mais d'autres

(1) Le cas est cependant plus rare qu'on ne le pense généralement. Voir, pour la nécessité des cultures successives, pour revenir à un type donné, les observations de M. J. Ray sur le *Sterigmatocystis bicolor*. (Ray, *Variations des Champignons inférieurs sous l'influence du milieu*, Rev. gén. de Botan., 1897).

fois granuleux et plus ou moins pulvérulent, d'autres fois encore comme gélatineux (1).

Les semis d'origine ont été faits avec des liquides quelconques pris un peu au hasard, à Montpellier ou à Paris dans les laboratoires de l'École de pharmacie, chez des pharmaciens ou chez des particuliers. La composition de ces liquides était des plus variées : eaux distillées (2), acides (3), sels de potassium (4), de sodium (5) ou autres (6), sels doubles ou mélangés (7), solutions nutritives de composition connue (8), corps spéciaux (9), etc., en tout environ une centaine de solutions diverses, choisies parmi celles dont les végétations variaient le plus d'aspect extérieur.

2. — SÉPARATION DES ESPÈCES

a. — **Milieu-type.** — Le moyen le plus pratique pour obtenir des cultures pures a été l'emploi de la pomme de terre acide comme substratum. Cette pomme de terre sera aussi le milieu-type auquel il faudra revenir pour contrôler l'exactitude des observations.

(1) Il faut noter aussi que certains liquides, en apparence limpides, contiennent des spores incapables de germer en ce milieu, mais vivantes et qui, transportées sur un substratum nutritif, se développent rapidement. On retrouvera ce fait à propos des cultures en milieux stérilisés.

(2) De menthe, de tilleul, de mélisse, de cannelle, de fleurs d'oranger. de niaouli, de spilanthes fusca. de valériane, de roses.

(3) Citrique, tartrique, borique, glycérophosphorique, gallique, cafétannique.

(4) Bromure, azotite, oxalate neutre, ferrocyanure, sulfate, liqueur de Fowler.

(5) Bromure, iodure, chlorure, hyposulfite, arséniate, carbonate, acétate, tartrate, glycérophosphate, phosphate acide, liqueur de Pearson.

(6) Chlorure d'ammonium, molybdate d'ammonium, tartrate, sulfate de magnésium, chromate de strontium, glycérophosphate, lactophosphate, biphosphate de calcium, sulfate d'aluminium, chlorure de baryum, etc.

(7) Alun, sulfate d'ammoniaque et de fer, tartrate de sodium et sulfate de plomb, glycérine avec sulfate de baryum, chlorhydrate de cocaïne et acide borique, sirop de morphine avec acétate d'ammoniaque.

(8) Eau glycérinée, glucose, sucre interverti, mannite, dextrine, gomme arabique.

(9) Gaïacol, créosote.

Évidemment la constitution chimique d'un pareil milieu n'est pas fixe (saison, grosseur, variété). Mais il faut un milieu solide ; or les milieux solides ont une constitution presque toujours variable, et ceux que l'on emploie d'ordinaire en bactériologie (gélatine, gélose, etc.), sont ici moins bons comme substratum, surtout si la culture doit se prolonger.

La pomme de terre offre plusieurs avantages :

La préparation et la stérilisation en sont faciles.

Elle constitue un bon milieu nutritif qui plaît à presque toutes les espèces.

Elle permet la séparation facile des colonies ou des mycéliums qui se distinguent bien sur sa couleur et s'enlèvent facilement grâce à sa consistance.

Elle donne au fond du tube où elle a été stérilisée un liquide, nutritif aussi, et où l'espèce étudiée, prend des caractères particuliers.

Elle se conserve assez longtemps sans se dessécher si on a soin de capuchonner le tube.

b. — **Préparation du milieu-type.** — Les pommes de terre coupées sont immergées pendant vingt minutes (ou une demi-heure au plus) dans de l'eau distillée acidulée avec 1 p. 100 d'acide sulfurique (1).

La préparation ultérieure et l'ensemencement se font comme pour les cultures bactériologiques (2). Le semis devra être fait en plusieurs tubes et avec des parties diverses de la végétation (surtout si elles diffèrent d'aspect, de couleur,

(1) Une proportion plus forte d'acide ou une immersion trop prolongée altèrent la pomme de terre, et les champignons se développent mal. Dans les conditions indiquées, au contraire, la végétation se fait très bien et l'acidité du milieu entrave ou empêche le développement des bactéries qui abondent dans tous les liquides essayés et envahissent rapidement les pommes de terre préparées par la méthode ordinaire, s'opposant au développement du champignon ou le modifiant profondément dans son aspect et même dans ses caractères intimes. Le procédé n'est d'ailleurs pas nouveau.

(2) Les cultures en boîtes de Pétri, peuvent être utiles, mais sont moins pratiques dans le cas particulier.

de situation, etc.). Conserver toujours un peu de la moisissure primitive.

c. — **Purification des cultures.** — Le semis se développe plus ou moins vite : vingt-quatre heures suffisent souvent; parfois un temps beaucoup plus long est nécessaire. Les bactéries sont très rares grâce à l'acidité de la pomme de terre. Quant aux algues que l'on dit fréquentes dans les solutions, le mode de culture semble les éliminer complètement.

Les différences dans la rapidité de développement des champignons obligent à ne pas abandonner trop vite les cultures primitives. Dès qu'une végétation apparaît, on la transporte dans un autre tube identique. Il faut ordinairement de nombreux semis pour l'obtenir vraiment pure, et, sur ce point très important, on doit se méfier beaucoup des apparences. Une culture peut paraître pure parce qu'une espèce a pris rapidement l'avance sur les autres, mais plus tard, souvent plusieurs jours après, d'autres champignons ou même certaines bactéries (dont la multiplication n'a été que retardée par l'acide) se montrent çà et là, ou restent plus ou moins dissimulés sous la végétation et sont transportés avec elle dans tous les semis. Très souvent les cultures primitives conservées donnent au bout de quelque temps des espèces jusqu'à ce moment invisibles.

La liste des organismes provenant ainsi d'une même solution peut être assez longue : 7 ou 8 quelquefois; c'est cependant l'exception. Une cause d'erreur assez fréquente est le développement sur la même pomme de terre de plusieurs formes d'une même espèce : la continuité des éléments, mise surtout en lumière par les cultures en cellule, permet d'établir l'identité.

On conservera donc pendant quelque temps la culture primitive sous peine de ne voir qu'une partie des plantes contenues dans la solution.

Cette séparation des espèces est très longue et très minutieuse, mais absolument essentielle, car la pureté de la culture est la base même de tout le travail.

Dès qu'une espèce paraît bien pure, on note avec soin les caractères qu'elle a sur ce milieu-type, auquel on devra revenir plus tard.

3. — CULTURES SUR MILIEUX STÉRILES

Une série d'opérations commence alors ; il faut :

1° Choisir les milieux de culture.

2° Les préparer.

3° Ensemencer ces milieux purs et stérilisés.

4° Les mettre dans les meilleures conditions pour le développement des semis.

5° S'assurer que la végétation obtenue appartient bien à l'espèce semée.

a. — **Choix des milieux.** — Ceux-ci devaient être : nombreux pour augmenter les chances de variation ; très différents les uns des autres pour la même raison ; les mêmes pour chaque espèce essayée afin d'avoir des résultats comparables ; absolument stériles pour n'avoir que l'espèce typique ; faciles à ensemencer, à examiner et à conserver purs après l'usage.

Les semis ont été faits sur environ 80 milieux différents :

Les uns *solides* : pomme de terre (milieu-type), carotte, fragments de bois de peuplier blanc, gélose nutritive (avec peptone et chlorure de sodium suivant la formule ordinaire employée en bactériologie), gélatine nutritive (mêmes observations), moût de bière gélatiné (employé avec succès par Laurent et autres pour les cultures de champignons).

Les autres *liquides*, comprenant :

1° Des solutions identiques à celles d'où j'étais parti, pour me rapprocher le plus possible des conditions normales.

2° Des solutions de substances à réactions très différentes, telles par exemple que la soude à 1 p. 100 et l'acide sulfurique faible (1 p. 100).

3° Des substances de composition voisine, mais différant par un point, la proportion de base par exemple (acide glycérophosphorique et glycérophosphates mono et disodique).

4° Des sels assez nombreux de la même base (sodium).

5° Des liquides très riches en substances nutritives (bouillon peptonisé), d'autres très pauvres (eau distillée).

6° Des substances toxiques (arséniate de sodium).

7° Des alcaloïdes (quinine).

8° Des substances complexes (liquide de Raulin).

9° Des substances spéciales (gomme, dextrine, etc., etc.).

Une première série de solutions ou milieux solides (une cinquantaine) comprend :

Pommes de terre, carottes, bois, gélose, gélatine, moût gélatiné.

Bouillon, mannite (5 p. 100), sucre interverti, eau glycérinée (10 p. 100), gomme (solution assez épaisse), dextrine (10 p. 100), eau distillée pure.

Eaux distillées de cannelle, mélisse, menthe, oranger, rose, tilleul.

Acides borique (5 p. 100), citrique (1), gallique (1 p. 100), sulfurique (1 p. 100), tartrique, glycérophosphorique (5 p. 100).

Soude (1 p. 100).

Glycérophosphates mono et disodique (5 p. 100), biphosphate de calcium, lactophosphate de calcium, phosphate acide de sodium (5 p. 100).

Liquide de Raulin.

Chlorure (5 p. 100), bromure (5 p. 100), iodure (5 p. 100), arséniate (1 p. 100), carbonate, acétate de sodium.

Arsénite (1 p. 100), ferrocyanure de potassium, alun.

Chlorure d'ammonium (5 p. 100), sulfate de magnésium, chlorure de baryum.

(1) Les solutions dont la proportion n'est pas indiquée sont des solutions de laboratoire variant de 5 à 10 p. 100, et dans lesquelles des moisissures s'étaient développées et avaient servi aux semis d'origines.

Sulfate de quinine (1 p. 100), chlorhydrate de cocaïne (1 p. 100).

Créosote (0,50 p. 100), gaiacol (0,50 p. 100).

Plus tard, les quatre espèces choisies pour une étude plus approfondie ont été ensemencées sur une nouvelle série de milieux :

1° *Milieux solides* (pommes de terre, bois, fragments d'éponge), imprégnés par macération de liquides ayant donné les résultats les plus intéressants (acide gallique, acétate de sodium, glycérophosphate monosodique, mannite, etc.).

2° Quelques *solutions à des doses diverses* pour étudier l'action de la viscosité plus ou moins grande ou de la proportion de substance minérale.

3° Quelques *milieux nouveaux*, voisins par leur composition ou leur fonction chimique de ceux que la première expérience avait montrés intéressants.

On a ainsi constitué les milieux suivants (une quarantaine) : acétate de sodium à 1 à 5 et à 10 p. 100, soude à 0,25 et à 0,50 p. 100, acide gallique à 0,50 p. 100 et à 1 p. 100, dextrine à 5 et à 20 p. 100, mannite à 1, à 5 et à 10 p. 100. Acide pyrogallique à 1 p. 100, tannin à 1 p. 100, acide picrique à demi-saturation, liqueur de Fowler normale, à demi-dose et à dose double d'arsénite de potassium, sucrate de chaux à saturation, urée (2 p. 100), glucose (5 p. 100), gomme à 3 consistances, eau distillée de cannelle ordinaire et étendue de moitié.

Avec quelques-unes de ces solutions et avec le glycérophosphate monosodique, on a de plus imprégné, par macération, 3 substances solides : pommes de terre, bois, éponge.

b. — **Préparation des milieux**. — Elle est des plus simples. Les cultures sont faites en tubes à essais, assez grands, bouchés au coton et stérilisés à l'autoclave si le milieu le permet. S'il y a danger d'altération, on emploie les chauffages successifs à 70°. En tout cas, il est bon de

conserver longtemps les tubes avant l'usage, car le développement des organismes peut être très lent dans les milieux chimiques.

c. — **Ensemencement.** — Il n'offre d'ordinaire aucune difficulté. Toutes les précautions seront prises comme pour les cultures bactériologiques.

Quel que soit le nombre de tubes à ensemencer, il faut que l'opération soit faite en une fois et avec le même tube. On peut d'ailleurs, quand on a un semis à faire, ensemencer d'abord une boîte de Pétri, qui donnera, sur une large surface, une quantité suffisante du champignon.

d. — **Conservation des semis.** — Elle doit être longue. Il est vrai que diverses espèces se multiplient assez vite, et qu'il est bon de ne jamais perdre de vue les semis. Mais cela est vrai, surtout pour les cultures sur milieux nutritifs ou spécialement favorables; sur d'autres, au contraire, le champignon végète très lentement, et l'on doit attendre plusieurs semaines ou même plusieurs mois.

On évitera les excès de sécheresse ou d'humidité, et en hiver on laissera à l'étuve à 27 ou 28°.

4. — SEMIS DE CONTROLE

C'est la dernière opération. On a vu plus haut qu'elle consistait à semer un fragment de la culture de chaque tube sur le milieu-type, c'est-à-dire sur une pomme de terre acide, sur laquelle doivent se retrouver, après un temps variable, les caractères de la *culture-type*. Ce dernier point une fois acquis, on est autorisé à considérer la forme décrite, comme appartenant bien au champignon étudié : tant qu'il reste douteux ou manque, on ne doit tenir aucun compte de la culture suspecte.

Le semis de contrôle et même l'examen microscopique doivent être faits, alors même que le tube de culture semble ne contenir que de petits fragments du semis primitif, ou même à peu près rien. En effet, l'étude microscopique

mettra souvent en évidence, soit un commencement de développement arrêté, soit un aspect spécial du mycélium ou des spores, soit des formes de résistance (enkystement, cutinisation, etc.) souvent très intéressantes; le semis de contrôle montrera si les spores, longtemps plongées dans le milieu étudié, ont pu, sans s'y développer, y conserver leur vitalité, en restant à l'état de vie latente. Je reviendrai plus loin sur ce point.

5. — CULTURES EN CELLULES

Les résultats obtenus et sur lesquels je vais insister, doivent être complétés sur quelques points : l'on peut employer pour cela les cultures en cellule sur des milieux très divers, dont les premières observations ont montré l'action. C'est une méthode qui donne en général d'excellents résultats. Mais en l'espèce, l'utilité en est restreinte.

En effet, le champignon, cultivé dans une simple gouttelette du liquide en sort d'ordinaire très rapidement, et perd aussitôt dans l'air bien des caractères qu'il avait pendant la submersion. Ainsi, un mycélium stérile a des formes enkystées lorsqu'il est plongé dans une solution d'acide gallique par exemple, et se développera en filaments fructifères si on le cultive en cellule dans une goutte de cette même solution. Il faut donc, sans négliger cette méthode importante, la soumettre toujours à un contrôle sévère.

Un excellent milieu pour cultiver en cellule, est l'eau qu'on prend au fond d'un tube où un fragment de pomme de terre a été stérilisé à l'autoclave. Tous les champignons expérimentés s'y sont très bien développés. C'est ce liquide qui sera désigné plus brièvement sous le nom d'*eau de pomme de terre*.

III. — RÉSULTATS GÉNÉRAUX

1. — PRINCIPAUX GENRES OBTENUS

La fréquence de certaines espèces est remarquable; elle était d'ailleurs prévue : tout champignon susceptible de vivre ou de se développer dans l'eau, et doué d'une grande force de résistance aux agents chimiques devra dominer dans cette liste : or c'est justement le cas des moisissures vulgaires. Je n'ai point ici le désir de donner même une idée de la flore mycologique des solutions chimiques : cette flore doit d'ailleurs varier avec les pays, avec les germes de l'air. Voici cependant les genres principaux observés çà et là, et souvent sans détermination spécifique.

Le *Penicillium glaucum* (soit le type ordinaire, soit la forme *crustaceum*) est de beaucoup l'espèce la plus fréquente. Sur une centaine de solutions ensemencées, je l'ai obtenue plus de soixante fois. Cette fréquence que j'avais déjà notée (1) a été signalée de nouveau par M. Guéguen (2), qui s'est livré récemment à des recherches sur les organismes mycéliens des solutions pharmaceutiques. Il a conclu que les *Hygrocrocis* se rattachent à deux où trois genres très répandus et le plus souvent au *Penicillium glaucum* dont il a fait l'étude spéciale. Il croit que ces *Hygrocrocis* sont formés par l'association du *Penicillium glaucum* et d'un *Hormodendron*, qui prédominent l'un ou l'autre sur tel ou tel milieu. L'auteur, dans de nombreuses recherches, n'a trouvé, en dehors des deux espèces ci-dessus, que : deux fois des *Mucorinées*, deux à trois fois des levures, deux fois des genres voisins du *Penicillium* (*Aspergillus* et *Sterigmato-*

(1) *Sur la fréquence du Penicillium glaucum* Link *dans les liquides chimiques et pharmaceutiques altérés* (Journ. de Pharmacie et de Chimie, 1898, t. I, p. 537).

(2) Guéguen, *Recherches sur les organismes mycéliens des solutions pharmaceutiques. Études biologiques sur le Penicillium glaucum* (Bull. de la Soc. mycol. de France, 1898-1899).

cystis). Pour lui « le *Penicillium glaucum* associé à un *Hormodendron* semble se développer dans les solutions à l'exclusion presque complète des moisissures voisines ».

Cette conclusion me paraît trop absolue : si le *Penicillium glaucum* est de beaucoup le champignon le plus commun dans ces conditions, ainsi que je l'ai montré moi-même, si le *Cladosporium herbarum* (ou la forme qui est l'*Hormodendron* de M. Guéguen) est assez fréquent aussi, la flore des solutés n'en reste pas moins très riche, et l'on augmenterait facilement la liste des espèces en multipliant les cultures.

Le *Penicillium* a été obtenu des liquides les plus variés. Il se développe très vite dans les cultures et on l'y croirait souvent seul, si l'on jetait le tube aussitôt après détermination. De plus, tandis que d'autres moisissures sont souvent spécialisées géographiquement, le *Penicillium* se présente abondamment toujours et partout (1).

Les *Aspergillus* et *Sterigmatocystis* viennent ensuite. Les cultures les ont donnés une trentaine de fois. Il est vrai qu'ici les espèces sont bien plus variées. Le *Sterigmatocystis nigra* s'est présenté à lui seul une dizaine de fois. Le *S. nidulans* semble assez fréquent aussi.

Le groupe des Dématiées est l'un des mieux représentés : *Cladosporium*, *Dematium*, *Alternaria*, *Macrosporium* et genres voisins, *Ceratostoma*, etc., abondent dans les solutions. Ils y prennent des formes très variables et constituent un sujet d'étude intéressant, à cause de leur plasticité. La partie spéciale de ce travail leur sera consacrée.

Les formes-levures se montrent très fréquemment. Les unes ovales ou arrondies, végètent en levures quel que soit le milieu, les autres apparaissent comme des formes spéciales d'espèces connues et ne tardent pas, soit sur d'autre milieux,

(1) Il paraît tout à fait ubiquiste. En effet, c'est lui que m'a donné une eau distillée de niaouli préparée en Nouvelle-Calédonie, et qui n'avait pas été débouchée en France; c'était une forme corémiée très fréquente de ce champignon, et tout à fait identique à nos *Penicillium* européens.

soit sur la pomme de terre même, à se transformer en *Alternaria*, en *Dematium pullulans*, etc. (1), ou à donner de petits sclérotes durs et résistants. En tout cas il est à remarquer que plusieurs champignons prennent fréquemment cet aspect lorsqu'on les cultive sur pomme de terre au sortir des milieux chimiques. Je reviendrai plus tard sur ces formes-levures.

Les *Cephalosporium* roses ou blancs ont été trouvés une dizaine de fois : ils constituent une des plus fréquentes moisissures des solutions.

Viennent ensuite, observés encore plusieurs fois, des *Verticillium*, des *Fusarium*, des *Mucor* (il est à remarquer que le *Rhizopus nigricans* ne s'est jamais trouvé spontanément), des *Oospora* intéressants (dont l'un a la propriété de bleuir fortement la pomme de terre sur laquelle on le cultive et où il prend l'aspect d'une sorte de dépôt crayeux), le *Trichoderma viride*, le *Cephalothecium roseum*, l'*Acrostalagmus cinnabarinus*, etc., etc.

Enfin quelques genres n'ont été rencontrés qu'une fois : *Chætomium*, *Bothriotrichum*, *Spicaria*, *Amblyosporium* (?); quelques moisissures n'ont offert aucune fructification permettant une détermination générique.

Il est évident que si les semis étaient multipliés encore, on obtiendrait non seulement les genres ci-dessus qui resteraient sans doute les plus fréquents, mais beaucoup d'autres.

Il eut été intéressant de noter quelques faits généraux au sujet de l'origine de ces champignons et de voir, par exemple, si les végétations des liquides à réaction acide ou des solutions de telle ou telle base, donnaient plus souvent certaines espèces. Il ne semble pas qu'on puisse dégager aucune règle à cet égard : la même plante provient des milieux les plus variés. Ce qui peut être plutôt vérifié, c'est

(1) De Bary, Lœw, Cuboni, Brefeld, etc., etc., ont signalé des formes-levures chez des champignons appartenant aux groupes les plus divers (Hyphomycètes, Ustilaginées, Basidiomycètes, etc.).

que le même champignon se retrouve dans la plupart des solutions d'un même laboratoire ; c'était d'ailleurs chose à prévoir (1).

2. — ESPÈCES ÉTUDIÉES

C'est dans cette liste encore très incomplète qu'ont été prises, un peu dans chaque groupe, une vingtaine d'espèces sur lesquelles ont été faites les observations générales.

Ces vingt espèces sont :

Deux *Alternaria*, l'un donnant des pycnides, l'autre non ; *Cladosporium herbarum* Link, *Dematium pullulans* de Bary (on verra plus loin qu'il y a lieu de séparer ces deux espèces), un autre *Dematium*, un *Ceratostoma* très analogue au *C. caulicola* Fuck., mais donnant des pycnides et non des périthèces, deux formes-levures roses, deux formes-levures blanches, une forme-levure brune, *Penicillium glaucum* Link (variété donnant très abondamment des sclérotes), *Sterigmatocystis nigra* V. Tiegh., *Sterigmatocystis nidulans*, *Cephalosporium roseum* Oud., *Trichoderma viride* Pers., *Cephalosthecium roseum* Corda, *Acrostalagmus cinnabarinus* Corda, un *Oospora*, un *Mucor*.

Une deuxième série de cultures a été faite ensuite, mais seulement avec les quatre premières espèces de cette liste. On a vu, en effet, que de toutes les moisissures en expérience, les Dématiées se sont montrées les plus aptes à varier. C'était donc sur elles que devait porter l'étude plus approfondie que je me proposais de faire. Les espèces en étaient d'ailleurs peu nombreuses, mais il semblait qu'elles fussent parmi les plus fréquentes dans les solutions.

J'ai donc étudié :

1° Un *Alternaria* donnant comme modes de reproduction des formes-levures, des pycnides, des spores en massif. Je

(1) Ainsi la forme-levure du *Dematium pullulans* s'est rencontrée dans plusieurs flacons du laboratoire de M. le professeur Villiers, et, à une exception près, n'a été retrouvée que là. D'autres, au contraire, se sont montrées fréquentes quelle que fût l'origine du liquide, en dehors même du *Penicillium*.

n'ai trouvé nulle part la description de cette espèce pour laquelle je propose le nom d'*Alternaria polymorpha* en raison de la multiplicité des formes qu'elle peut présenter.

2° Un *Alternaria* distinct du premier, à spores en massif plus différenciées, mais ne présentant à peu près aucun autre mode de reproduction. Cette espèce est assez plastique pour pouvoir être désignée sous le nom d'*A. varians*.

Ces noms n'ont d'autre prétention que de faciliter la description, et les plantes se rattachent évidemment à des espèces d'Ascomycètes qui sans doute seront plus tard déterminées.

3° Le *Cladosporium herbarum* Link, c'est-à-dire la plus vulgaire des Dématiées et peut-être la plus étudiée. Mais cette espèce a été très diversement comprise par les auteurs, et le mode de culture auquel elle a été soumise ici peut permettre de se faire une opinion sur sa valeur et sur sa variabilité.

4° Le *Dematium pullulans* de Bary, autre espèce dont les limites et même l'existence sont très discutées. Le polymorphisme de cette plante, sa fréquence au milieu d'autres champignons l'a fait souvent confondre avec des espèces voisines. Il était donc important d'éclaircir quelques points de son histoire.

3. — VITALITÉ ET DÉVELOPPEMENT DES CULTURES

Avant d'entrer dans l'étude des formes et des variations microscopiques, il faut jeter un coup d'œil d'ensemble sur les cultures et voir comment elles se sont comportées. Les constatations ont été faites après six mois.

Quatre cas peuvent se présenter :

1° *Le semis n'a pas poussé et a péri* (1) ;

2° *Le semis n'a pas poussé, mais n'a pas péri ;*

3° *Le semis a poussé, puis a péri;*

(1) Les résultats négatifs pouvant être accidentels et tenir à un défaut dans l'opération, il faut toujours renouveler l'expérience.

4° *Le semis a poussé et n'a pas péri ;*

1er **Cas**. — Rien n'apparaît dans le tube ensemencé et le semis de contrôle ne donne rien.

Quelques milieux se sont montrés tout à fait rebelles à certaines espèces. Ainsi, l'eau distillée de cannelle, certains acides (glycérophosphorique, sulfurique, borique, salicylique, etc.), la soude à 1 p. 100, l'alun, la liqueur de Fowler. En général, les champignons qui poussent dans ces milieux ne tardent pas à y périr. Mais les exceptions sont nombreuses.

2e **Cas**. — Bien plus rare que le premier. Le champignon ne se développe pas ; le tube paraît ne rien contenir ou à peu près : mais, au semis de contrôle, l'espèce se montre avec tous ses caractères. Le semis primitif s'est donc conservé vivant sans germer ni proliférer : on le retrouve intact au microscope. Cette conservation de la vitalité n'est pas toujours en rapport avec une forte cutinisation : certaines levures la possèdent. Elle est importante, car elle peut expliquer des résultats en apparence contradictoires. En effet, la méthode qui consiste à prélever dans les flacons d'origine des fragments du végétal, à les semer aseptiquement sur milieux stériles, à déterminer les espèces obtenues et à leur attribuer la production des filaments observés dans le liquide, est évidemment sujette à caution ; il se peut très bien que les filaments nageant dans la solution aient perdu à la longue leur vitalité (Voy. 3e cas), tandis que des spores non développées et peu visibles, mais vivantes, sont l'origine réelle de la végétation obtenue. Le système suivi ici et qui consiste à porter dans les milieux chimiques stériles des espèces pures en contrôlant les résultats par un semis qui doit reproduire le premier, semble donner au contraire une certitude absolue.

Une dizaine de milieux ont présenté ce phénomène pour une, deux, ou plus rarement, trois espèces. Ainsi, le *Trichoderma viride* s'est conservé dans le phosphate acide et l'arséniate de soude, le chlorure de baryum, les alcaloïdes;

le *Sterigmatocystis nidulans*, dans l'acide gallique, l'alun, la quinine, etc., etc., le *Cephalothecium roseum*, le *Cladosporium herbarum*, l'*Acrostalagmus*, le *Ceratostoma*, etc., se sont aussi conservés dans quelques rares milieux.

3e Cas. — Le tube contient une végétation parfois très abondante, mais le semis de contrôle reste stérile (1). Le fait est assez fréquent. (Je rappelle que les essais de contrôle ont été faits après six mois.) C'est le cas de l'eau de cannelle et de la liqueur de Fowler pour tous les semis qui ont poussé dans ces liquides. C'est le cas ordinaire pour la soude à 1 p. 100, l'acide glycérophosphorique, l'acide borique, l'iodure de sodium, etc. C'est le cas fréquent aussi pour le *Cladosporium* dans les milieux acides, pour le *Dematium* dans les milieux alcalins. Au microscope, on peut souvent constater des signes de dégénérescence (huile, granulations, renflements mycéliens, etc.).

4e Cas. — La végétation typique est reproduite par le milieu de contrôle. En comparant les résultats d'ensemble, on est frappé de la prédominance énorme de ce dernier cas sur les autres, en dehors même des milieux vraiment nutritifs, et la conclusion s'impose que la plupart des champignons inférieurs ont une aptitude merveilleuse à se plier aux conditions d'évolution les plus mauvaises. Il est vrai que beaucoup de corps chimiques sont utilisables par les plantes et entrent, par exemple, dans la constitution des engrais, mais ce n'est pas le cas général et l'on se demande comment ces végétaux peuvent se contenter d'aussi maigre nourriture. Il en est qui, ne pouvant se développer dans le milieu même, trop défavorable, ont poussé sur les parois du verre, hors de l'eau, n'ayant évidemment pour se nourrir que la vapeur d'eau qui remplit le tube, et plus d'une fois la fructification s'est faite dans ces conditions. L'eau distillée pure rentre tout à fait dans le 4e cas. En dehors des levures que je ne considère pas ici, j'ai semé dans l'eau

(1) Renouveler l'épreuve pour les mêmes motifs que ci-dessus.

14 espèces dont *aucune* n'a péri (sauf à la longue le *Cladosporium*). Toutes les eaux distillées ont agi de même, sauf celle de cannelle ; le bromure de sodium à 5 p. 100 n'a laissé mourir aucune espèce : le chlorure est dans le même cas. Des corps paraissant peu utiles ou nuisibles (créosote, gaïacol, ferrocyanure de potassium, sulfate de magnésium, alcaloïdes, etc.) ont donné des résultats positifs au semis de contrôle pour presque toutes les espèces (1).

On trouve évidemment de grandes différences dans la vigueur des végétations et dans l'aspect de la culture. Sans doute, à côté de flocons luxuriants se trouvent des termes de passage avec la seconde catégorie : mais, en somme, la plante a poussé et résisté. Dans certains cas, elle s'est défendue en épaississant ses parois, en constituant des formes de résistance, cutinisées ou non. Ailleurs, sa vigueur naturelle a suffi. Parfois, elle a pu gagner la surface du liquide et y fructifier abondamment. D'autres fois, enfin, l'influence du milieu se fait sentir en empêchant toute fructification. D'une façon très générale, les végétations immergées sont souvent stériles, et il est intéressant de constater, en jetant un coup d'œil sur le relevé des cultures dépourvues de tout organe de reproduction, que presque tous les milieux ont présenté des cas, ou au moins un cas de ce genre. Il semble cependant que certains liquides s'opposent plus que d'autres à la production de spores ou d'organes de reproduction, tout en permettant à la plante de pousser. De ce nombre sont, par exemple, le ferrocyanure de potassium et quelques eaux distillées.

Il est des milieux qui semblent s'opposer à la cutinisation et chez lesquels le mycélium, ordinairement coloré, reste plus ou moins blanc. Le ferrocyanure de potassium, le

(1) Chose assez singulière, les milieux nutritifs riches comme la gélose, la gélatine, etc., semblent quelquefois conserver moins longtemps la vitalité de certaines espèces qui s'y sont d'abord très bien développées. La dessication de la surface peut être pour beaucoup dans ce fait, mais il se peut aussi que l'épuisement rapide par une végétation d'abord vigoureuse en soit cause en partie.

chlorure de baryum, le phosphate acide de sodium, beaucoup d'eaux distillées et certains milieux nutritifs (gélose, gélatine, bouillon, etc.) ont cette propriété à des degrés divers. Mais l'action générale et spéciale de chaque milieu ou groupe de milieux fera l'objet d'un chapitre à part.

4. — ACTION GÉNÉRALE DES MILIEUX EMPLOYÉS

Pour éviter d'inutiles répétitions, cette étude sera faite après la partie spéciale, comme une sorte de résumé portant non seulement sur le groupe des Dématiées, mais sur l'ensemble des champignons mis en expérience.

5. — VARIATIONS GÉNÉRALES DES CHAMPIGNONS ÉTUDIÉS

Les champignons inférieurs subissent dans les milieux chimiques de nombreuses modifications (1) qui seront étudiées avec soin pour quelques espèces dans la partie spéciale. On doit se borner ici à une vue d'ensemble sur les causes de la variation et les modifications générales que subissent soit la plante entière (gélification, cutinisation, etc.), soit l'appareil végétatif, soit enfin l'appareil reproducteur.

a. — **Causes de variation**. — Les modifications tiennent ici à plusieurs causes :

A. — Immersion dans un liquide et par conséquent :

1° Action de l'eau;

2° Manque d'oxygène.

(1) L'influence des milieux, du substratum sur la plupart des caractères de certains champignons, a été souvent mise en évidence : récemment encore M. Ray, en étudiant à ce point de vue, sur des milieux nutritifs, le *Sterigmatocystis* qu'il décrit sous le nom de *bicolor*, a montré que les caractères dont se servent les mycologues peuvent disparaître tous : dimensions, coloration, forme, etc., etc. Les spores sont restées identiques. (J. Ray, *Variations des Champignons inférieurs sous l'influence du milieu* (Rev. gén. de bot., 1897). — De son côté, M. Wasserzug avait obtenu sur un *Fusoma* des modifications complètes, même sur les spores (taille, forme, nombre des cellules, etc.). (Wasserzug, *Recherches morphologiques et physiologiques sur un Hyphomycète* (Ann. de l'Inst. Pasteur, 1888.)

B. — Action générale des éléments dissous qui peuvent être :

1° Nutritifs;
2° Toxiques;
3° Insuffisants pour maintenir la vie;
4° Neutres, acides ou basiques.

C. — Actions physiques diverses :

1° Éclairage;
2° Température;
3° Agitation (1), etc.

Immersion. — Une seule de ces diverses causes suffirait à expliquer les changements morphologiques. Ainsi il existe des champignons aérobies et anaérobies et l'on sait que, déjà chez les levûres, la privation d'oxygène amène des changements profonds. Des formes mycéliennes bizarres, des modifications dans la position ou l'aspect des conidies se produisent dans ces conditions. Mais la part d'influence de chaque cause est souvent difficile à délimiter. La végétation en filaments moniliformes par exemple, parfois attribuée à l'immersion, s'est produite dans certains liquides seulement, en sorte qu'il est peut-être difficile d'admettre, comme on l'a fait, une forme aquicole pour chaque espèce, et moins encore une forme *aquicole générale* pour les champignons d'un même groupe. La vraie forme aquicole est celle que prendrait le champignon dans l'eau pure bien aérée. Dans les solutions, l'action du milieu s'ajoute toujours plus ou moins à celle de l'immersion et de la privation d'oxygène.

On peut cependant faire une distinction à cet égard, en comparant dans un même tube de culture les parties *immergées* dans le liquide (flocons ou dépôt), et les parties *émergées*, s'étalant à la surface ou s'élevant le long des parois. Les deux subissent l'action de la substance dissoute, les premières sont soumises en plus à l'influence de l'immersion et de la vie sans air. Il est fréquent que des différences se

(1) J. Ray, *loc. cit.*

montrent alors nettement, soit dans l'appareil végétatif qui, immergé, devient d'ordinaire plus pâle, plus rameux, plus plus toruleux, soit dans l'appareil reproducteur qui diminue d'importance ou même disparaît, et peut en tout cas perdre ses caractères normaux.

Les *formes immergées* sont souvent les plus intéressantes, parce qu'elles s'éloignent davantage du type normal et parce qu'elles constituent le point de départ de cette étude : en effet, dans les laboratoires, les liquides envahis sont souvent agités, pris et remis en place, filtrés dès qu'ils s'altèrent; les spores s'y développent donc plutôt dans le liquide, car les filaments ne peuvent s'étaler librement à la surface.

Si le semis est spontané, le nombre des spores qui se développent dans un flacon est faible, et les végétations souvent peu importantes. Dans les expériences, au contraire, on sème dans une quantité très restreinte de liquide (quelques grammes) une quantité de spores forcément très grande.

Je n'ai pas à insister ici sur l'importance de la richesse du milieu en matières nutritives, importance capitale pour tous les végétaux. Les champignons ne sauraient faire exception. Les expériences à cet égard sont démonstratives et datent déjà de loin. Le travail classique de Raulin (1) sur le *Sterigmatocystis nigra* (*Aspergillus niger*), a montré que la moindre modification dans la composition du milieu se traduit par un changement important dans la vigueur du végétal.

Les substances dites *toxiques* n'ont pas toujours la même action sur les plantes que sur les animaux. L'étude de la toxicité des liquides employés se trouvera résumée dans le chapitre final sur l'action générale des milieux. Il en est de même de la question de l'acidité.

Enfin l'influence des *agents physiques* divers (éclairage, température, agitation, etc.) n'a pas été étudiée ici, toutes

(1) J. Raulin, *Études chimiques sur la végétation* (Ann. des Sc. nat., 5e sér., vol. XI, 1869).

les cultures ayant été faites parallèlement et dans des conditions physiques identiques.

Variation par succession de génération. — Il arrive assez souvent qu'une espèce longtemps cultivée perd ses caractères primitifs. Si l'on sème sur le milieu-type une végétation directement tirée des solutions, on obtient par exemple une forme-levure que l'on isole et que l'on cultive ensuite sur divers milieux. Il peut arriver que le semis de contrôle donne des flocons mycéliens blancs mêlés à la levure primitive, et qu'on prend pour une impureté, jusqu'à ce qu'une série d'expériences et de constatations montrent qu'ils appartiennent bien à la même plante.

D'autrefois, on fait sur pomme de terre type une série de semis successifs de la même espèce, et les derniers diffèrent sensiblement des premiers, soit pour le mode où l'abondance de la reproduction, soit pour l'aspect de l'appareil végétatif. C'est là un fait assez souvent signalé, et expliqué de façons différentes (1). Quelques générations suffisent alors pour rendre au végétal son allure primitive.

Rien ne peut surprendre dans ce fait, d'ailleurs assez rare : un milieu capable de modifier un champignon au degré que l'on verra, peut aussi évidemment agir sur son évolution ultérieure.

Variation par changement de milieu. — Une autre cause est le passage brusque d'un milieu pauvre à un milieu riche, passage qui pousse souvent le champignon à développer son mycélium aux dépens de l'appareil fructifère. C'est ce qu'a démontré de Seynes (2) à propos du *Penicillium glaucum* à spores roses que Trabut (3) avait trouvé dans le sulfate de cuivre. L'aptitude de ce champignon à former des conidies est très diminuée, non par l'action spéciale du

(1) J. Ray, *loc. cit.*

(2) J. de Seynes, *Résultats de la culture du Penicillium cupricum* Trabut (Bull. de la Soc. bot. de France, séances du 12 juillet et du 26 juillet 1895).

(3) Trabut, *Sur un Penicillium végétant dans des solutions concentrées de sulfate de cuivre* (Bull. de la Soc. bot. de France, addit., séance du 14 déc. 1894, vol. de 1895, p. 33).

cuivre, mais par ce passage immédiat dans un milieu de culture très riche, donnant aux phénomènes végétatifs une impulsion vigoureuse aux dépens de la reproduction.

Je dois dire cependant que ces faits incontestables m'ont paru exceptionnels. Pour la vérification des expériences, j'ai toujours fait ce que j'ai appelé plus haut le *semis de contrôle*; j'ai donc porté sur le même substratum riche, la même espèce provenant des milieux les plus divers, et je dois dire que presque toujours les résultats ont été comparables. Pour chaque espèce j'ai eu parfois une grande diversité dans la vigueur du développement, quelques divergences aussi dans la rapidité d'évolution, très peu de différences profondes portant sur les organes de reproduction. Mais je parle ici surtout des Dématiées que j'ai suivies de plus près et je n'entends pas généraliser.

Dose; durée des cultures. — J'appelle l'attention sur l'importance de deux éléments dans les expériences qui font le sujet de ce travail : 1° la question de la *dose*, du degré de la solution ; 2° la question de *temps*. Si l'on ne se met pas à cet égard dans des conditions identiques, on risque d'obtenir des résultats déconcertants. Voici par exemple la culture de l'*Alternaria polymorpha* dans les solutions d'acétate de sodium. Ce milieu n'est pas seulement pauvre, il est aussi véritablement nuisible. A dose faible (1 p. 100) il donne pourtant une végétation abondante, très normale, avec pycnides noires, innombrables stylospores, nombreuses spores en massif, filaments réguliers, etc. Mais dès qu'on augmente le degré de la solution (5 p. 100, 10 p. 100), les pycnides disparaissent, la plupart des filaments deviennent toruleux, stériles, laissant sortir leur sphère centrale hors de la cuticule; l'aspect est en un mot tout à fait différent. Voyons cette même espèce sur gomme : après un ou deux mois, les éléments divers qu'on rencontre (pycnides, etc.) sont très pâles, non cutinisés : pas trace d'*Alternaria* ; revoyons le même tube après six mois : la préparation est riche en formes diverses de mycélium durable.

Les exemples pourraient être multipliés : il suffit d'indiquer la nécessité de se mettre toujours dans des conditions identiques. Aussi dans les résultats obtenus n'ai-je considéré que les cultures âgées, ayant eu le temps de prendre sur les milieux leurs caractères définitifs.

Les modifications du champignon s'expliquent donc fort bien. Elles portent sur des points très divers spécialement sur la forme des éléments (surtout végétatifs), leur cutinisation plus ou moins forte, l'épaisseur de la membrane, la gélification, la couleur, les dimensions, la nature du contenu, l'apparition des nouvelles formes reproductrices ou la disparition des formes caractéristiques de l'espèce, l'enkystement ou la fragmentation du mycélium, la formation de levures, de fumago, etc. Donner sur les espèces spécialement étudiées le détail de ces modifications, sera l'objet même de ce travail. Quelques faits généraux doivent seuls ici arrêter un instant l'attention.

b. — **Plasticité de certaines espèces.** — La variabilité s'est montrée très différente suivant les groupes. Il faut rappeler que le milieu est surtout en cause ici et que les conditions physiques souvent si actives, de température, d'éclairage, d'agitation, etc., ont été laissées de côté. Dans les conditions spéciales de ce travail, les Mucédinées ont montré en général une grande fixité; les différences restent souvent minimes; d'ailleurs bien des espèces ne se développent pas du tout dans nombre de milieux.

Les Dématiées au contraire ont fait preuve à la fois d'une forte résistance aux agents chimiques et d'une grande facilité d'adaptation au milieu. C'est leur plasticité même qui m'a décidé à diriger de leur côté des recherches qui primitivement s'adressaient aux végétations quelconques des solutions et des hydrolats. Cette plasticité se fait sentir pour la moindre variation quelquefois. Sur pomme de terre, le *Dematium pullulans* donnera une levure ou un *fumago* suivant que le tube sera ou non recouvert d'un capuchon

de caoutchouc, etc. Quelquefois même on ne pourra que constater les faits sans leur trouver une explication plausible. Ce même *Dematium pullulans* par exemple donne sur les eaux distillées en général des filaments cutinisés ou non, avec ou sans chlamydospores : sur l'eau distillée d'oranger, on ne trouve absolument que des levures grossies, ovales, souvent colorées, jamais unies en filaments. Il est inutile de multiplier ici des exemples que l'on trouvera plus loin.

c. — **Multiplicité ou spécialisation des formes sur un même milieu.** — Certains milieux de culture, le milieu-type par exemple (pomme de terre) et d'une façon générale les milieux fortements nutritifs (glycérophosphates, moût, etc.) voient les champignons prendre sur eux des formes multiples, simultanées ou successives. A ce point de vue l'étude d'une Dématiée dans une culture ancienne sur pomme de terre est fort intéressante. On y trouve l'espèce, sinon sous tous ses aspects, du moins avec des caractères très divers, que l'on peut revoir séparément sur d'autres milieux. Levures, fumago, conidies aériennes, chlamydospores, mycélium coloré on incolore, mycélium durable, passages fréquents, non seulement d'une forme mycélienne à l'autre, mais de l'appareil végétatif à l'appareil reproducteur, etc., tout cela peut parfois être embrassé d'un coup d'œil dans une même préparation. On en trouvera de nombreux exemples.

D'autres milieux au contraire semblent spécialiser les formes et impriment alors à l'espèce un cachet tout particulier. Ici la multiplication en levure se fera seule ; là toutes les cellules se cutiniseront fortement, ailleurs le mycélium restera indéfiniment stérile et incolore ; tel milieu donnera la fructification typique du champignon dans la nature : tel autre modifiera le nombre, la forme ou la disposition des spores, etc. Il s'ensuit des différences d'aspect parfois si profondes que l'on supposerait facilement avoir fait fausse route et avoir affaire à une autre espèce accidentellement substituée, si cette forme, ici localisée, ne se retrouvait sur

les milieux à formes multiples, et si le semis de contrôle ne venait donner une certitude rigoureuse à l'observation, en ramenant constamment au type d'origine.

d. — **Convergence.** — Cette spécialisation des formes, et la divergence qui en résulte, est peut-être moins curieuse encore que le caractère inverse de convergence offert par certains milieux pour des espèces différentes. Voici par exemple plusieurs espèces cultivées dans une solution d'acide gallique. Chez toutes, le contenu cellulaire se colore; la membrane s'épaissit fortement sans que la cutinisation augmente d'ordinaire; les cellules ont une tendance à se séparer, ou à former de petits groupes d'aspect fumagoïde; la végétation, d'ailleurs peu abondante, reste presque toujours au fond du tube sous forme d'un dépôt granuleux ou très peu cohérent; enfin aucun organe reproducteur ne se montre. Si bien qu'à l'examen microscopique même, il devient très difficile de reconnaître à quelle espèce on a affaire. D'ailleurs en dehors des Dématiées, d'autres champignons de groupes très divers prennent aussi cette forme spéciale. Ainsi le *Sterigmatocystis nidulans* la présente dans ce milieu (1).

En étudiant plus loin les aspects que prennent les Dématiées, des exemples de cette convergence de caractère se montreront : les formes fumagoïdes, les formes toruleuses, les formes fragmentées, etc., se retrouvent souvent chez des espèces diverses, immergées dans un même milieu. L'étude générale qui sera faite à la fin sur l'action des milieux employés mettra aussi en évidence plusieurs de ces faits intéressants.

(1) Les Mucédinées cependant sont en général moins modifiées. Dans les solutions de tannin qu'ils transforment d'ailleurs en acide gallique, le *Penicillium glaucum* et le *Sterigmatocystis nigra* se développent en un mycélium ordinaire, non enkysté. (Van Tieghem, *Recherches pour servir à l'histoire physiologique des Mucédinées. Fermentation gallique* (Ann. des Sc. nat., 5e série, t. VIII, p. 210.)

6. — VARIATIONS DE L'APPAREIL VÉGÉTATIF.

Les variations obtenues ont porté principalement sur les organes végétatifs : mises dans des conditions anormales, les plantes se sont défendues par la formation de chlamydospores, par la cutinisation des parois et les modifications du mycélium, sa transformation en mycélium durable, en spores en massif, etc., c'est-à-dire en somme par la production d'organes reproducteurs dérivés directement du mycélium.

a. — **Modification de la paroi cellulaire.** — Bien que je n'étudie pas ici la structure cellulaire intime des diverses espèces, je dois parler de la membrane, car elle est profondément liée à la morphologie générale. Les deux modifications principales qui se produisent, sont la gélification et la cutinisation, qui peuvent porter aussi bien sur l'appareil végétatif que sur les spores. Elles sont surtout importantes chez les Dématiées. En outre les renflements mycéliens, l'abondance de la matière grasse, les fragmentations mycéliennes, etc., sont aussi des faits généraux à examiner sommairement. La formation des chlamydospores peut aussi trouver place dans l'étude de l'appareil végétatif.

Cutinisation. — La formation d'une enveloppe dure et colorée est un caractère général de toutes les Dématiées. Mais ce caractère est sujet à de grandes variations. Le mycélium, sous l'influence de certains milieux (ferrocyanure par exemple) peut rester blanc dans son ensemble : des régions incolores persistent parfois entre des parties cutinisées. Toutes les cellules enfin peuvent subir une subérification plus ou moins profonde et présenter à cet égard tous les passages. En général la cutinisation est en rapport d'une part avec l'émersion et d'autre part avec l'âge du filament, mais il est inexact que le séjour dans un liquide empêche tout à fait cette cutinisation et qu'un temps très long soit toujours

nécessaire. Le milieu joue ici un grand rôle pour hâter ou pour retarder le phénomène. Parfois la cutinisation est extrême, la paroi complètement noire et inextensible et, dans certains groupes, les éléments sont tout à fait indistincts. La coloration des membranes au début de la cutinisation est à peine grisâtre, puis gris verdâtre, brune et enfin noire. Souvent les cellules se gonflent avant de se cutiniser.

L'enveloppe peut rester simple, mais si la cutinisation devient forte, des zones s'y montrent et souvent, comme on va le voir, la région moyenne tend à se transformer en mucilage. Ce qui frappe aussi dans ces espèces, c'est l'inégalité de la cutinisation dans les diverses cellules d'un même filament, certains éléments étant destinés plus spécialement à défendre l'espèce contre le milieu et constituant ainsi des formes de résistance.

Gélification. — La gélification de la paroi cellulaire, si fréquente dans la nature, semble, dans certaines conditions du moins, être un fait assez général chez les champignons. Dans les milieux d'origine, dans les flacons de laboratoire, les filaments sont parfois d'une viscosité extrême ; le même fait se rencontre dans les cultures pures. Dans le groupe des Dématiées le mucilage abonde. On voit par exemple les stylospores sortir des pycnides dans une masse mucilagineuse, etc.

Cette gélification de la paroi cellulaire est aussi un moyen de défense contre le milieu. On la rencontre chez les cellules non cutinisées, souvent entourées d'une mince zone translucide, colorable par les réactifs. On la retrouve chez les cellules légèrement cutinisées. Elle se produit aussi, même si la cutinisation est très accentuée, mais alors c'est la zone sous-cuticulaire qui se gélifie et qui se répand au dehors, soit par les pores ou les fissures de la cuticule, soit par de larges fentes produites par l'éclatement de l'enveloppe externe. Dans les cas extrêmes qui répondent à un état de dépérissement de la plante, les filaments apparaissent

comme entourés d'une épaisse atmosphère mucilagineuse un peu colorée (Pl. I, fig. 8), et si les cellules voisines émettent abondamment aussi leur mucilage, il se forme des nappes gélatineuses, jaunâtres, cohérentes d'ailleurs et bien limitées et sur lesquelles sont étalés les filaments, ou sont piquées les cellules isolées (Pl. IV, fig. 15). Il arrive aussi que, la cuticule extérieure se laissant un peu distendre autour d'une courte série ou d'un petit groupe de cellules, on aperçoit par transparence 2 ou 3, quelquefois 4 cellules arrondies au milieu d'une enveloppe commune ayant vaguement l'aspect d'une asque, sans que, bien entendu, aucun rapprochement vienne ici à l'esprit. C'est d'ailleurs une apparence rare, car cet état est passager : la cuticule se rompt bientôt et s'étale dans la préparation.

Or, on rencontre dans les flacons des solutions chimiques des sortes de cellules brunâtres volumineuses et comme vidées, qui ne sont probablement pas autre chose que ces enveloppes de mycélium durable ou de grosses cellules, dont le contenu s'est échappé. On y trouve aussi çà et là des fragments membraneux bruns, sans structure et très irréguliers de forme et de dimensions. En observant ce qui se passe dans les cultures en voie de gélification, on a lieu de penser que ce sont des débris de la cuticule qui recouvrait les cellules cutinisées d'un filament : cette cuticule s'est fendue sous l'effort de la gélification et les fragments s'en sont étalés en lame mince et brune. Dans certaines préparations, on voit très bien le filament pluricellulaire étendu encore au-dessus d'une lame de ce genre.

b. — **Sortie des cellules hors de la cuticule.** — Cet éclatement de la membrane extérieure cuticulaire m'amène à parler d'un curieux phénomène qui s'est produit dans les quatre Dématiées étudiées. C'est la sortie du globule cellulaire hors de sa cuticule qu'il abandonne comme une coque vide. Le fait se rencontre quelquefois pour les spores en massif mais surtout pour les cellules diverses gonflées du mycélium cutinisé et tout spécialement pour les formes fumagoïdes.

On voit la paroi de ces éléments présenter une fente cuticulaire, souvent irrégulière ou sinueuse, à travers laquelle un petit globule blanc plus ou moins sphérique vient faire hernie (Pl. I, fig. 10, etc.) et sort peu à peu, quelquefois complètement, d'autres fois à moitié, en conservant sur un de ses points des traces, des fragments de l'enveloppe cutinisée. A première vue on croirait à un commencement de germination des spores en massif ou à un début de ramification du mycélium cutinisé : mais ces globules herniés s'arrondissent et ne se développent pas en filament, à ce moment du moins. On pourrait croire aussi, tout d'abord, à la sortie de gros globules graisseux comme il s'en forme si souvent dans les cellules de ces champignons à végétation anormale. Mais les caractères microscopiques et les réactions indiquent ici du protoplasma et on distinguera toujours ces petits globules aux caractères suivants :

Double contour très net; — granulations intérieures abondantes ; — dimensions en rapport exact avec la cellule d'où ils sortent; — possibilité de germer ; — quelquefois commencement de cutinisation de l'enveloppe.

D'ailleurs l'huile existe souvent à côté dans la préparation, et peut imprégner le globule lui-même.

L'influence du milieu de culture sur cette sortie des cellules hors de leur enveloppe externe est considérable : chez les espèces qui présentent ce phénomène, il s'observe fréquemment dans les mêmes solutions et souvent sur des liquides épais, visqueux, comme la gomme ou la dextrine, en sorte qu'il pourrait y avoir ici une raison physique à l'éclatement de la cuticule. Mais cette raison n'est pas la seule.

C'est là un mode un peu spécial de reproduction (1). Il doit

(1) M. de Seynes a décrit à plusieurs reprises des formations de conidies endogènes chez divers champignons (*Recherches pour servir à l'histoire naturelle des végétaux inférieurs*, fascic. 2 et 3). Mais ces corps se forment à l'intérieur de la membrane cellulaire, et ne sont pas limités par une partie de cette membrane elle-même. En outre, il n'est pas question de cellules cutinisées.

être rapproché de la germination des kystes et des chlamydospores. Mais tandis que dans ceux-ci, la cellule germe simplement à travers une fente plus ou moins grande de la cuticule, ici l'expulsion du globule central est complète d'ordinaire, et celui-ci débarrassé de son enveloppe (qui tantôt est fragmentée en morceaux plus ou moins volumineux, d'autres fois reste dans le liquide comme une sorte de ballon vidé), ne germera que plus tard et lentement. Le globule cellulaire est entouré d'une membrane épaisse à double contour, blanc ou peu coloré, net; il reste sphérique, le milieu étant épuisé. Rarement j'ai vu un début de germination (Pl. IV, fig. 8). Dans les milieux favorables, cette germination se fait, mais beaucoup plus lentement que celle des autres éléments (levures, conidies, etc.). De plus, ces sphères apparaissent parfois comme légèrement cutinisées et avec tous les passages dans certains milieux; l'on hésite parfois pour savoir si l'on aperçoit une cellule fumagoïde ou un globule déjà sorti.

Il semble donc que l'on ait affaire ici, non à une sorte de germination spéciale, mais à un mode de conservation et de multiplication de l'espèce. La cellule, mise dans des conditions défavorables, s'enkyste et s'entoure d'une enveloppe rigide; mais elle continue à grossir et ne peut le faire qu'en rompant cette enveloppe. Elle sort donc, laissant cette coque ou ses débris dans le liquide, entourée d'une membrane à la fois épaisse et souple, qu'elle distend; ne pouvant germer à cause de l'épuisement du milieu, elle enveloppe cette membrane d'une nouvelle cuticule dont elle pourra plus tard se débarrasser de nouveau. On remarquera que cette sortie du globule central est en rapport avec une grande épaisseur ou une grande dureté de l'enveloppe, mais aucunement avec les dimensions de la cellule.

Il faut rappeler que j'ai constaté le fait, avec quelques légères et rares modifications, dans les quatre Dématiées que j'ai étudiées. Il paraît donc assez général et n'en est que plus intéressant.

Considéré au point de vue mécanique, le phénomène paraît dû à deux causes : d'une part le gonflement protoplasmique (la cellule qui sort étant toujours bien sphérique, a membrane très distendue par la pression intérieure) — et d'autre part la gélification de la région moyenne de la membrane, qui par sa pression contribue à faire éclater la cuticule, et par sa consistance demi-liquide et visqueuse provoque et facilite l'expulsion du globule central. La gélification apparaît donc ici comme un moyen de déhiscence. Les réactifs peuvent mettre cette gélification en évidence.

Je dois encore ajouter que le phénomène se produit quelquefois, même chez des cellules non cutinisées : ainsi pour le *Dematium pullulans* dans l'acide gallique. Mais ces cellules sont en tout cas enkystées dans une membrane très épaisse et l'explication reste la même (Pl. IV, fig. 9).

c. — **Fumago. Formes fumagoïdes.** — Le nom de *fumago* sert à désigner d'une façon un peu vague les productions noirâtres qui se développent dans certaines conditions sur les feuilles des arbres et tout spécialement sur celles que recouvrent la miellée ou les sécrétions sucrées des pucerons ou des cochenilles. Au point de vue botanique il y a là des types distincts : la forme *fumago* est certainement un aspect de convergence de plusieurs champignons, aspect dû à l'identité des conditions (dessiccation, lumière, substratum sucré).

Je n'ai point l'intention d'étudier ce groupe complexe, mais seulement de démontrer que les Dématiées examinées ici prennent souvent cette forme et arrivent ainsi à se ressèmbler, quoique très nettement distinctes. Toutes les espèces que j'ai étudiées m'ont présenté des formes fumagoïdes. Zopf, Laurent, Berlèse, entre autres, ont obtenu des formes de ce genre par des cultures sur milieux variés.

Certaines de ces cellules fumagoïdes peuvent être considérées comme des *chlamydospores*, car elles se forment par isolement et séparation d'articles mycéliens après fort enkystement. D'autres, de même origine absolument, restent au contraire unies en filament.

Si l'on donne au mot *fumago* le sens large qui doit être le sien, on peut y comprendre toutes les végétations dont l'aspect à l'œil nu est granuleux, souvent pulvérulent, la couleur brun foncé ou noire, et qui, au microscope, ont ce caractère commun d'être en cellules isolées ou d'ordinaire en petits groupes cellulaires plus ou moins globuleux, rarement allongés en courtes files, à parois cutinisées, fort épaisses ; il est très fréquent de voir ces cellules divisées, cloisonnées suivant deux plans, ou même suivant les trois directions de l'espace.

L'aspect fumagoïde peut être produit de trois façons :

1° Par cutinisation directe des levures ou des conidies qui grossissent et noircissent après s'être multipliées (pl. IV, fig. 6) ;

2° Par végétation spéciale des éléments germant, quels qu'ils soient : division dans un ou deux plans, cutinisation et arrêt. Ce sont là les vraies formes fumagoïdes : quelques filaments courts s'y mêlent parfois, bientôt arrêtés dans leur croissance (Pl. IV, fig. 12) ;

3° Par cutinisation de filaments ou de parties de filaments. Ici on passe à la *chlamydospore* ainsi qu'on l'a vu.

Ces éléments se forment d'ordinaire en petits groupes : on voit donc que le résultat est le même, mais l'origine complètement différente. Du reste, soit dans des espèces distinctes, soit dans les mêmes espèces, l'aspect des formes fumagoïdes en milieux divers change totalement, et le mot ne sert ici que pour désigner un aspect général à la culture, pouvant coexister avec des caractères intimes tout à fait différents.

Si certaines espèces comme le *Dematium pullulans* ont une plus grande tendance à former des végétations fumagoïdes, il est aussi des milieux qui semblent y contribuer plus souvent que d'autres : ainsi l'acide gallique, l'acide glycéro-phosphorique, le liquide de Raulin. Mais il est très difficile de généraliser et la plupart des liquides peuvent produire des formes de ce genre

d. — **Chlamydospores.** — Les cellules enkystées amènent à la chlamydospore. Dans les Dématiées qui viennent d'être plus spécialement considérées, l'étude des chlamydospores est intéressante, parce que les passages sont nombreux. Prenons le *Dematium pullulans* par exemple. Voici des cellules colorées sur le trajet de filaments blancs (eau distillée). Ces cellules plus ou moins brunes destinées à germer lorsque les conditions deviendront favorables, et qui s'isolent par résorption des filaments blancs, sont évidemment des *chlamydospores*. Voici d'autre part un filament complètement cutinisé et dont les cellules n'ont pas modifié leur forme, ou très peu : c'est là du mycélium dur ordinaire. Or, entre ces deux extrêmes, les végétations étudiées offrent tous les termes, non seulement par comparaison de l'une à l'autre, mais par le rapprochement des régions de la même culture ; souvent même, dans une préparation unique, tous les passages se trouvent et l'on éprouve grande difficulté à tracer une limite nette entre les organes végétatifs et reproducteurs, limite que je ne pourrai pas tracer davantage pour les spores en massif des *Alternaria*, pour les conidies en chapelet des *Cladosporium*, ou pour les pycnides dont je ferai bientôt l'histoire. Tout cela est du mycélium dont l'évolution, dont la différenciation vers l'organe reproducteur spécialisé peut être suivie pas à pas. Dans l'espèce, la *chlamydospore* est, par définition du mycélium, et chez les Dématiées en particulier, ce terme est à peu près synonyme de *cellule mycélienne enkystée*. Ainsi considéré, c'est un mode très général de reproduction.

Envisageons maintenant, non plus les seules Dématiées, mais l'ensemble des champignons mis en expérience. La chlamydospore nous apparaîtra encore comme un mode de reproduction à la fois très fréquent et très varié. Les Mucorinées rencontrées ont montré leurs chlamydospores typiques très abondamment. Dans une espèce de *Mucor*, elles offraient quelques particularités. Ce *Mucor* a été trouvé trois fois dans les cultures (eau distillée de cannelle, eau

distillée de valériane et un liquide indéterminé). Les chlamydospores étaient si abondantes, et cela dans à peu près tous les milieux, que souvent le protoplasma se condensait en deux ou trois sphères au lieu d'une, dans une commune enveloppe. Cette espèce forme des spores de ce genre jusque dans l'intérieur de la columelle : la plupart des columelles des sporanges, bien visibles après la dispersion des spores, contiennent deux ou trois, quelquefois quatre amas protoplasmiques, bien limités par une membrane fine, indépendante et entourés, comme enveloppe commune, par la paroi de la columelle. Le *Trichoderma viride*, l'*Acrostalagmus cinnabarinus*, etc., etc., ont aussi offert des chlamydospores fréquentes.

e. — **Renflements mycéliens.** — Souvent, dans les conditions anormales auxquelles il est soumis, le mycélium présente des renflements sur certaines de ses cellules. Ces dilatations, très différentes, soit des chlamydospores, soit des cellules ordinaires enkystées ou dilatées par leur contenu, sont vides ou à peu près, ont une paroi légèrement épaissie et incolore et portent le plus souvent sur une partie seulement de la cellule, en sorte que les cloisons intercellulaires ne limitent pas le renflement à ses deux extrémités. Ces renflements sont un signe de dégénérescence pour le mycélium : on les rencontre souvent dans les végétations anciennes à la surface des milieux nutritifs épuisés (gélose, gélatine, bouillon, etc.), et souvent aussi dans les végétations immergées. Ils peuvent d'ailleurs, avoir des formes variées, tantôt irrégulières, tantôt en série et fréquemment en chapelets de cellules claviformes, une extrémité de la cellule étant plus renflée que l'autre.

De Seynes (1) attribue aux dilatations qu'il a vues se former sur le *Penicillium crustaceum*, le rôle de flotteurs, et cette explication ingénieuse paraît très vraisemblable dans le cas qu'il a décrit. Les cellules peuvent prendre

(1) De Seynes, *Expériences physiologiques sur le Penicillium glaucum* (Bull. Soc. bot. de France, 9 fév. 1872, p. 107).

la forme sphérique ou en tonnelet, parce que le mycélium tend à se fragmenter en articles distincts, et que cette tendance se traduit dans quelques cas par un simple gonflement de la partie moyenne des cellules. Ce ne sont plus là de vrais renflements mycéliens, c'est plutôt un passage à un véritable mode de reproduction, comparable à la formation de chlamydospores ou d'oïdies.

f. — **Matière grasse.** — La matière grasse abonde dans les moisissures des cultures ou des liquides primitifs. Elle est d'ordinaire en rapport avec une végétation défectueuse. De Seynes (1) a montré à propos du protoplasma submergé du *Penicillium glaucum* que des gouttelettes d'huile régulièrement alignées dans les filaments cellulaires indiquaient une dégénérescence. Dans la plupart des cas, il semble bien en être ainsi.

Mais la matière grasse n'est pas toujours en gouttelettes fines : elle se rencontre aussi en amas plus volumineux, qui finissent souvent par s'échapper et se répandre dans le liquide sous forme de corps arrondis réfringents. Toutes les espèces peuvent ainsi donner de la matière grasse en abondance. Cette huile est incolore, et rougit par l'orcanette. Il n'est pas rare de voir la gouttelette huileuse avoir des dimensions telles que la cellule modifie sa forme et devient tout à fait sphérique, ou même qu'il se produit des mycéliums moniliformes par succession de cellules arrondies.

7. — VARIATIONS DE L'APPAREIL REPRODUCTEUR.

On observe aussi des variations de l'appareil conidien, variations dans le nombre, la forme, la disposition des conidies, leur couleur et leurs dimensions, ainsi qu'on en verra de nombreux exemples. Des observations analogues ont été faites souvent. Pour n'en citer qu'une, je rappelle

(1) De Seynes, *loc. cit.*

que le *Penicillium glaucum* peut offrir des spores roses, et que d'autres formes grises ou incolores ont été indiquées par divers observateurs pour ce champignon normalement vert. On trouvera diverses modifications de ce genre chez les Dématiées. Une des espèces a donné d'abondantes pycnides; j'ai obtenu aussi des sclérotes de *Penicillium* et des formations analogues chez d'autres espèces. Mais jamais, sauf pour des *Aspergillus*, aucun périthèce n'a évolué.

Il est toujours difficile d'obtenir la forme parfaite des Ascomycètes, et d'ailleurs, je ne me suis pas mis dans les conditions nécessaires pour avoir chance de succès, car le but poursuivi était différent. Frappé cependant de l'aspect que prenaient certaines cultures en cellule d'un *Alternaria*, et qui semblait indiquer une tendance à la formation de périthèces, j'ai tenté d'obtenir ceux-ci en cultivant les Dématiées sur des milieux solides, nutritifs (pomme de terre), peu riches (bois) ou inertes (éponge), imprégnés par macération des liquides où j'avais observé cette tendance (mannite, glycéro-phosphate monosodique, acide gallique, dextrine, etc.). Malgré la prolongation de l'expérience, ces milieux, qui d'ailleurs se sont montrés favorables et ont fourni d'autres résultats intéressants consignés plus loin dans ce travail, n'ont donné ni périthèces, ni corps quelconques faisant prévoir leur formation.

8. — FORMES-LEVURES.

Je dois signaler encore un fait intéressant : c'est le nombre considérable de *formes-levures* que l'on rencontre dans ces conditions. Dans les flacons de certains laboratoires surtout, on trouve très souvent cette forme spéciale. Pour certaines espèces, ce n'est là qu'un mode de multiplication rapide, et si l'on change les conditions de la vie, on voit ces levures modifier promptement leur forme et passer à l'état de filaments mycéliens, pourvus ou non

d'organes reproducteurs. De ce nombre est par exemple une forme-levure que j'étudierai plus loin, et qui donne très facilement de remarquables pycnides : de ce nombre aussi la forme-levure étudiée par Laurent, et que j'examinerai avec le *Dematium pullulans*. Mais en réalité, ce ne sont point là de vraies levures, pas même des formes-levures, mais plutôt des spores à comparer soit aux stylospores des pycnides, soit aux conidies. Ces fausses levures de Dématiées sont très souvent aptes à se cutiniser, parfois après division en deux ou même en trois, et à constituer ainsi des *Hypnospores*. Elles n'amènent aucune fermentation. Leur forme est allongée, leur couleur en masse est blanc jaunâtre, quelquefois rouge.

Mais les solutés et eaux distillées donnent d'autres formes-levures intéressantes, dont je ne poursuivrai pas l'étude dans ce travail, parce qu'elles se sont montrées très peu aptes à varier. Ce ne sont point non plus de vraies levures, puisqu'elles n'amènent pas de fermentation, et n'ont d'ailleurs aucun des caractères des Saccharomycètes : mais elles ne semblent pourtant faire partie du cycle d'aucun champignon connu, car malgré toutes les variations dans le substratum, je n'ai pu obtenir le moindre changement dans la forme ; tout au plus chez deux ou trois d'entre elles s'est-il fait une ou deux fois des sortes de sclérotes stériles, ou quelques filaments peu consistants.

Ces levures sont fréquentes : leur forme est souvent arrondie, tout à fait sphérique, plus rarement ovoïde ou allongée en bâtonnet; elles se multiplient avec une grande rapidité soit sur les lamelles des cellules, soit dans les tubes où elles forment un épais dépôt.

Chez quelques-unes, la taille varie beaucoup. Chez d'autres elle est régulière. La couleur en est aussi très différente vue en masse (blanc crême, jaune, brune, rose ou rouge vif). Dans la plupart des milieux chimiques elles se développent mal ou même pas du tout. Sur les milieux nutritifs solides, elles prennent à s'y méprendre l'aspect de certaines

végétations bactériennes et l'examen microscopique est nécessaire pour les distinguer.

L'une de celles que j'ai trouvées le plus souvent végète en petits mamelons saillants, tantôt comparables à des grains de semoule, tantôt rappelant l'aspect de certaines cochenilles hémisphériques qui seraient appliquées sur la pomme de terre par leur face plane. D'autres s'étendent en une couche humide qui envahit rapidement toute la surface de la pomme de terre. La plupart, lorsque la dessiccation arrive, pâlissent et prennent un aspect crétacé blanchâtre. Aucune d'elles ne paraît amener de fermentation. Les dimensions, la tendance à s'agencer quelquefois en filaments, ne permettent pas la confusion avec des bactéries.

C'est une étude spéciale à faire, étude que j'ai laissée momentanément de côté : mais je ne pouvais pas passer sous silence ces curieux champignons si fréquents dans les milieux chimiques.

IV. — RÉSUMÉ DE LA PARTIE GÉNÉRALE

Les végétations des solutions chimiques et pharmaceutiques sont dues aux germes le plus ordinairement répandus dans l'air et dans l'eau (p. 5).

Les genres et les espèces obtenus en cultivant ces végétations sont très variés (p. 16).

L'espèce de beaucoup la plus commune est le *Penicillium glaucum*. Les Dématiées sont aussi très fréquentes. Les *formes-levures* se rencontrent très souvent (p. 16).

Cultivées dans les milieux chimiques variés, les espèces étudiées se comportent diversement (p. 20) :

1° Aucune végétation n'a lieu : les germes meurent ;

2° Le développement se fait : puis la plante meurt ;

3° Le développement n'a pas lieu, mais la vitalité est conservée longtemps ;

4° Le développement se fait : la vitalité se conserve.

Le milieu nutritif solide le plus favorable pour l'ensemble des cultures est la pomme de terre acidifiée par un séjour de un quart d'heure dans une solution à 1 p. 100 d'acide sulfurique. C'est le *milieu-type*, terme de comparaison pour les semis dits *de contrôle*, destinés à prouver que les formes obtenues appartiennent bien à l'espèce étudiée (pp. 8, 14).

Les milieux nutritifs solides (gélose, etc.) donnent des végétations vigoureuses, mais la surface s'épuise assez vite et la vitalité des cultures n'est pas très longue (p. 23).

Les milieux chimiques agissent très diversement (voir à la fin).

Beaucoup d'espèces se contentent des milieux les plus pauvres. L'eau distillée suffit dans bien des cas au premier développement tout au moins (p. 22).

Les causes de la variation sont multiples : immersion (action de l'eau, absence d'air) ; action des éléments dissous (nutritifs, toxiques, insuffisants, etc.) ; actions physiques (éclairage, température, agitation, etc.) (p. 24).

L'immersion amène d'ordinaire des modifications dans la coloration, la forme et la fertilité des filaments (p. 25).

La succession des générations peut amener des changements dans les caractères, ainsi que la culture : suivant qu'une espèce aura séjourné dans un milieu ou dans un autre, elle pourra prendre ensuite sur le milieu type des caractères différents. Le fait est cependant beaucoup plus rare qu'on ne l'a cru (p. 27).

La dose employée est de grande importance : la plante peut conserver ses caractères normaux dans une solution faible, et prendre son aspect anormal, caractéristique du milieu, dès que la proportion s'élève (*Alternaria polymorpha* dans l'acétate de soude par exemple) (p. 28).

Le temps est aussi un facteur essentiel, les caractères définitifs (formes fumagoïdes, formation de chlamydospores, mycélium durable, etc., etc.), ne se montrant souvent qu'après plusieurs mois. Il faut toujours comparer des cultures de même âge (p. 28).

La tendance à la variation est très différente suivant les groupes. Les Dématiées sont particulièrement plastiques (p. 29).

Un même milieu peut montrer soit une grande multiplicité de formes, simultanées ou successives, soit au contraire une spécialisation de ces formes, amenant souvent des phénomènes de convergence (p. 30).

Les variations portent surtout sur l'appareil végétatif (p. 32).

La cutinisation offre des degrés très divers. Elle peut manquer totalement (ferrocyanure, etc.), être très diminuée (eaux distillées, etc.), se localiser sur quelques cellules (cas fréquent) ; augmenter fortement (dextrine, etc.) (p. 32).

Dans les cas extrêmes, la membrane des Dématiées se montre formée de trois zones : interne (normale), — moyenne (gélifiée), — externe (cutinisée) (p. 33).

La gélification est fréquente ; elle peut être très influencée par le milieu et souvent fort augmentée (dextrine), au point d'englober les cellules, isolées ou non, dans une masse gélatineuse formant une véritable zooglée (p. 33).

C'est la zone moyenne qui se gélifie dans la membrane des cellules fortement cutinisées. Le mucilage gonflé fait souvent éclater la cuticule (p. 33).

Le gonflement simultané du protoplasma cellulaire et du mucilage amène fréquemment, après la rupture de la cuticule, soit sur les cellules des spores en massif, soit plus souvent dans les cellules cutinisées du thalle, la sortie de la cellule elle-même entourée de la zone interne de sa membrane, hors de la cuticule (p. 34).

Cette cellule dégagée peut germer, quoique rarement et péniblement, dans le milieu épuisé. Le plus souvent elle tend à se cutiniser de nouveau. C'est une sorte de mue (p. 35).

Le phénomène se produit avec plus ou moins de fréquence sur toutes les Dématiées étudiées. Il semble donc assez général (p. 36).

Certains milieux en favorisent la production (dextrine, glycérophosphates, etc.) (p. 35).

Il se produit aussi dans des cellules non cutinisées mais

enkystées dans des parois très épaissies (acide gallique, etc.) (p. 37).

Des formes fumagoïdes, parfois identiques aux vrais *Fumago*, se rencontrent chez toutes les espèces étudiées (p. 37).

Elles sont spécialement abondantes chez le *Dematium pullulans* (p. 38).

Beaucoup de ces formes passent à la chlamydospore (p. 37).

L'aspect fumagoïde peut être produit sur la même espèce :

a. — Par cutinisation directe des levures ou des conidies.

b. — Par végétation courte, et division dans deux plans (*Fumago*).

c. — Par cutinisation de parties filamenteuses ou de cellules dans les filaments (chlamydospores) (p. 38).

Certains milieux favorisent beaucoup le développement de formes fumagoïdes (acide glycérophosphorique, acide gallique, liquide de Raulin, etc.) (p. 38).

Les chlamydospores sous diverses formes sont très fréquentes dans les végétations en liquides chimiques (p. 39).

On peut rencontrer tous les passages entre l'article mycélien et la chlamydospore (p. 39).

Les renflements mycéliens, d'aspects divers, s'observent souvent chez ces espèces, en particulier dans les formes immergées, et surtout dans quelques milieux (p. 40).

Les fragmentations du mycélium, cutinisé ou non, se produisent très fréquemment (oïdies, etc.) (p. 41).

Les formes-levures se montrent très souvent dans les végétations des solutés. Les unes sont des stades d'évolution de certains champignons (*Dematium pullulans*, *Alternaria polymorpha*), les autres sont des formes fixes se reproduisant uniquement en levures sphériques ou oblongues, colorées ou non, quel que soit le milieu employé (p. 42).

Ces formes-levures n'amènent pas de fermentation (p. 43).

PARTIE SPÉCIALE

ALTERNARIA POLYMORPHA

I. — ORIGINE DE LA CULTURE

Cette espèce est une des plus intéressantes. Elle appartient sans doute au cycle évolutif de quelque Sphériacée, et n'est pas sans analogie par quelques-unes de ses formes avec les pycnides décrites par Bauke (1) chez le *Cucurbitaria elongata*. Mais elle en diffère par bien des points, et comme jusqu'ici je n'ai pu obtenir de périthèces, je la désigne sous le nom d'*Alternaria polymorpha* qui indique son extrême variabilité.

L'espèce doit être assez répandue dans la nature, car je l'ai rencontrée plusieurs fois : dans les liquides qui l'ont fournie (2) on ne trouve guère comme pouvant lui être rapportés, au milieu de végétations variées, que des fragments appartenant au mycélium de résistance étudié plus loin (3). Mais sur la pomme de terre qui sert au semis,

(1) Bauke, *Beiträge zur Kenntniss der Pycniden* (Nov. act. cæs. Leop. Carol. deutsch. Akad. der Naturf. Halle 38, n° 5).

(2) Eau distillée de tilleul prise à l'hôpital Laennec ; bromure de potassium d'un laboratoire de l'École supérieure de Pharmacie de Paris ; azotite de potassium du même laboratoire.

(3) J'ai eu quelque peine à obtenir cette espèce pure ; d'abord mélangée à du *Penicillium glaucum*, elle entraînait toujours avec elle quelques spores de ce champignon, encombrant entre tous. Mais cela m'a permis d'autre part d'observer quelques faits de concurrence vitale que des expériences faciles à réaliser ont mis plus nettement en lumière. Dans les cultures de *Penicillium*, j'avais vu souvent ce champignon prendre un aspect tout spécial ;

la première forme développée est une sorte de levure, d'abord rose dans l'ensemble, puis noire et d'aspect fumagoïde qui sert de point de départ à toutes les cultures.

II. — RÉSISTANCE AUX MILIEUX

Cette espèce est une de celles qui poussent le mieux sur les milieux les plus variés. Six d'entre eux seulement l'ont tuée (résultat négatif au semis de contrôle). Il est remarquable que trois de ces milieux sont des acides (glycérophosphorique, tartrique, sulfurique.). Les 3 autres sont des milieux réfractaires à la plupart des espèces (soude, liqueur de Fowler, eau distillée de cannelle).

La végétation n'a été faible que sur sept milieux et parmi eux l'acide citrique, l'acide gallique, le phosphate acide de sodium (1) ; la réaction acide est donc ici une des causes d'insuccès.

Dans quelques rares milieux, le semis n'a donné qu'un

étalé en lame mince, crustacé, très dur, de couleur grise ou légèrement brune, très rarement bordé de blanc, mais jamais vert, à pénicilles grêles, il semblait appartenir à une tout autre espèce : mais les végétations sur l'eau du fond du tube avaient l'aspect normal ; il y avait là simplement lutte par mélange avec la forme-levure rose de l'*Alternaria* étudié ici.

Si sur une même pomme de terre on met les deux plantes en concurrence, on peut vérifier les faits suivants :

A. — Si le *Penicillium* a poussé d'abord avec tous ses caractères, il modifie bientôt sa belle apparence, devient vert pâle, puis gris, puis noirâtre.

B. — Si c'est la levure qui s'est développée abondamment d'abord, le *Penicillium* s'étend superficiellement au-dessus d'elle sans pouvoir, semble-t-il, s'enfoncer au travers ; il a l'aspect d'une membrane blanchâtre, rosée même (la levure apparaissant par transparence), mince, adhérente, difficile à enlever, et n'offrant que des pinceaux très grêles, très pâles, à deux ou trois rameaux au plus, avec spores peu nombreuses, non vertes ; quelquefois même il est tout à fait stérile. Suivant le moment du semis et l'abondance de la forme-levure, on trouve tous les intermédiaires dans cet arrêt de développement.

En somme, dans cette lutte, le *Penicillium* paraît souffrir plus que son concurrent. Il arrive cependant qu'à la fin il prend le dessus et s'étend alors avec des caractères presque normaux.

(1) Les autres sont : eau glycérinée, arséniate de sodium, iodure de sodium, ferrocyanure de potassium.

mycélium assez abondant, mais stérile : c'est le cas de l'acide borique, du ferrocyanure de potassium et du chlorure de baryum. Ce mycélium est resté incolore et filamenteux d'ordinaire, toruleux et spécial dans le ferrocyanure.

Sur les autres milieux la végétation est abondante et le mycélium fructifère.

III. — ASPECT GÉNÉRAL DES CULTURES

L'aspect général des cultures varie naturellement beaucoup. Lorsque la levure a simplement proliféré un peu ou a noirci sans se développer en mycélium filamenteux, il se fait au fond du tube un dépôt léger, dissocié, blanc (ferrocyanure), rougeâtre (acide citrique) ou noir (acide gallique), que l'agitation met en suspension. Le cas est tout à fait exceptionnel. D'ordinaire la levure se développe, donne des filaments plus ou moins abondants qui forment un voile léger ou un flocon nuageux, et tantôt flottent dans le liquide, tantôt tombent au fond, tantôt s'étalent à la surface. Souvent aussi, lorsque la culture est abondante, les ramifications mycéliennes s'étendent sur la paroi du tube et viennent former hors du liquide des pycnides ou du mycélium durable. Le voile superficiel peut être assez épais pour permettre de renverser le tube. L'aspect et la consistance sont souvent gélatineux (gélification des parois cellulaires).

La couleur des végétations varie depuis le mycélium absolument incolore ou blanchâtre, jusqu'à la teinte grise, brune, noir verdâtre ou noir foncé. On obtient parfois une membrane noire, épaisse (glycéro-phosphate, gomme, mannite, dextrine, etc.). Ordinairement des filaments grisâtres forment le centre de la végétation et s'entourent d'une sorte d'auréole blanche ; ou bien la teinte est plus ou moins rosée, rarement jaunâtre (quinine) ; souvent aussi des granulations noirâtres ou roses (gomme) piquent çà et là la membrane blanche ou des ponctuations noires, fines, s'attachent sur les parois du tube, entourées ou non d'une légère bordure

mycélienne blanche. Enfin les flocons peuvent être nombreux, petits et comme dissociés. Plus rarement la végétation est complètement émergée, ne se développant que hors du liquide nuisible, qui lui donne seulement l'humidité nécessaire à la vie.

IV. — CULTURE SUR LE MILIEU-TYPE

En semant sur pomme de terre acide un fragment de la moisissure primitive, on voit dès le deuxième jour (au milieu d'autres champignons), des taches roses d'aspect bactérien : c'est là une *forme-levure*, végétant en levure, mais pouvant donner un *mycélium*.

Ces taches s'étendent, deviennent granuleuses, chagrinées, humides : le bord de la culture change bientôt de couleur : jaunâtre, fauve, ou un peu verdâtre, puis peu à peu plus foncé ou même noir ; les granulations qu'il offre s'étendent sur la paroi du tube. Au microscope, toutes ces ponctuations se montrent comme des *pycnides* dont la couleur est successivement blanche, rosée, jaune, puis brune. Des *stylospores* abondantes sont dès lors mêlées aux formes-levures. La teinte noire qui gagne peu à peu en surface est due à la cutinisation tardive des stylospores ou des levures elles-mêmes.

Bientôt la culture tout entière tend à devenir d'un noir verdâtre sur divers points : cette teinte est due à la formation d'un *mycélium cutinisé durable* dont les formes inférieures sont de simples cellules peu modifiées et les formes supérieures des spores en massif de *Macrosporium* ou d'*Alternaria*.

En même temps, ou peu après (1), la surface de la culture

(1) Il est à remarquer que sur les premières cultures, faites il y a environ un an et demi, j'obtenais toujours les granulations roses dès le début et longtemps seules. La coloration verdâtre ou noire arrivait ensuite, et enfin, beaucoup plus tard, et non toujours, se montraient les parties de mycélium tomenteux gris, vert ou noir. Actuellement le tomentum se déve-

se recouvre d'un tomentum gris blanc ou verdâtre, sous lequel on retrouve longtemps la teinte rouge ou brunâtre primitive. Ce tomentum est un mycélium stérile abondant, incolore ou faiblement coloré, et présentant quelquefois des formes assez variées.

Au bout de quelques jours l'ensemble est noir verdâtre, avec des parties rosées, à la fois granuleux et tomenteux. On y trouve alors réunies toutes les formes énumérées. (Pl. I, fig. 3).

Au-dessus de l'eau, s'étale, souvent dès le début, une membrane, rosée à la surface, blanche dans les régions immergées, formant bientôt un voile épais et adhérent, et conservant très longtemps ces caractères : c'est là un mycélium avec des pycnides à divers états.

On peut donc trouver ici des pycnides :

1° Dans toute la surface rose, sous les levures ;

2° Au bord des cultures (points jaunes, bruns ou noirs) ;

3° Sur le tube même, surtout dans la partie étranglée (réseau mycélien visible à la loupe entre ces pycnides) ;

4° Sur le voile mycélien du liquide.

Enfin, plus tard, si la dessiccation arrive, le substratum se racornit peu à peu, sans que se montre aucun corps nouveau.

Quelle que soit l'origine du semis, le type reste le même sauf quelques variations de détail (rapidité ou abondance du développement, etc.).

Dans la culture sur pomme de terre acide, on trouve donc au bout de quelque temps des formes nombreuses et très diverses pour une seule espèce. C'est un cas très général ;

loppe presque toujours simultanément ou peu après, sans que la raison m'en paraisse évidente.

Du reste, divers observateurs (Brefeld, etc.) ont noté fréquemment que des champignons végétant parfois en levures, atténuent par des générations successives cette production de levures, et la remplacent par une végétation mycélienne de plus en plus nette. C'est ainsi que les premières générations de certains *Ustilago* peuvent seules infecter les Graminées par leurs formes-levures, les suivantes en étant incapables.

toutes les espèces cultivées sur ce milieu ont montré un remarquable polymorphisme.

On peut suivre ces divers éléments et démontrer qu'ils appartiennent bien à la même espèce.

En semant une quelconque des formes énumérées (mycélium stérile, forme-levure, stylospores, mycélium durable, *Alternaria*, *Fumago*, etc.), on obtient toujours sur pomme de terre acide, la levure rose tout d'abord, quelles que soient les précautions prises pour ne semer jamais qu'un des éléments.

La levure rose est seule au début, puis toujours suivie de l'apparition des pycnides. On passe donc de l'une à l'autre et réciproquement.

Il en est de même pour les taches noires qui, semées, reproduisent les végétations rosées : celles-ci noircissent ensuite ; la levure rose épaissit sa membrane et la cutinise par une sorte d'enkystement, précédé parfois de la production d'un court filament. Tous les passages sont visibles.

Enfin tous les doutes peuvent être levés par les cultures en cellule qui permettent de suivre le développement des diverses parties.

V. — GERMINATION ET DÉVELOPPEMENT

1. — CULTURE EN CELLULE SUR EAU DE POMME DE TERRE

a. — **Forme-levure.** — Elle offre des dimensions très variables, depuis 2 jusqu'à 12 μ. Forme plus variable encore, ovoïde, sphérique, cylindrique, atténuée à une ou aux deux extrémités ; souvent munie d'un ou de deux bourgeons, tantôt arrondis, prêts à se détacher, tantôt formant le début du mycélium futur. Souvent aussi une cloison divise la cellule en deux. Un double contour se montre surtout sur les formes arrondies volumineuses. Chaque cellule de levure est entourée par une mince auréole réfringente et transparente de mucilage. Cutinisation ordinairement nulle, au moins au début.

Pour suivre le développement de ces formes-levures en cellule, il est nécessaire de les prélever sur une culture très jeune, avant l'apparition des premières pycnides. Plus tard elles sont toujours mêlées d'abondantes stylospores qui d'ailleurs germent d'une façon très analogue.

Fig. 1. — Culture sur pomme de terre acide. Levure à divers états (1).

b. — **Germination.** — Sur une goutte de l'eau prise au fond d'un tube de pomme de terre stérilisé, la germination est très rapide. On observe alors :

1° Gonflement de la levure;

2° Apparition d'une zone claire assez large autour de la levure ;

3° Premier étranglement avec scission en deux cellules (non constant);

4° Formation d'un petit filament quelquefois moniliforme ;

5° Allongement en un filament régulier, continu et bientôt ramifié.

Généralement la germination se fait par les deux extrémités de la levure en même temps, ou bien le tube germinatif se bifurque immédiatement au sortir de la cellule et donne deux branches très divergentes. Exceptionnellement il peut y avoir trois ou quatre branches.

La cellule primitive reste souvent reconnaisable :

1° A sa forme plus ou moins arrondie ;

2° A son double contour plus net;

3° A sa position fréquente en dehors de la ligne du mycélium.

Mais ce ne sont pas là des caractères absolus.

Dans les levures et les filaments, grosses gouttelettes réfringentes.

(1) Toutes les figures de ce travail sont dessinées à la chambre claire et au même grossissement d'environ 600 diamètres.

La germination est d'ailleurs souvent inégale. Les levures ne poussent pas toutes ensemble, il est probable qu'il y a pour la germination une maturité nécessaire.

Enfin sur divers milieux spéciaux, la germination ne se fait pas de la même manière; les premières cellules moniliformes peuvent être très fortement arrondies, sphériques ou, au contraire, immédiatement allongées en un filament délicat, etc., etc.

Les levures cutinisées germent de même, mais beaucoup plus lentement.

Les filaments qui partent de la levure initiale s'étendent beaucoup et se ramifient. Ils ont une remarquable tendance à s'anastomoser, point à noter, non seulement pour reconnaître l'espèce, mais pour expliquer l'aspect que prennent parfois les pycnides.

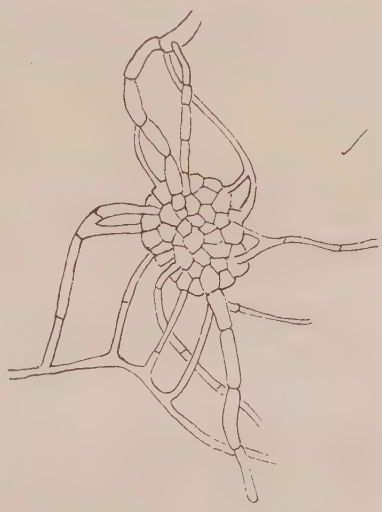

Fig. 2. — Culture sur gélatine. Formation des pycnides.

c. — **Développement des pycnides.** — Il paraît différent suivant les cas. Les pycnides immergées des membranes mycéliennes de l'eau de pomme de terre, par exemple, se forment par cloisonnement d'une cellule et formation d'un massif cellulaire qui s'organise et se creuse plus tard sans que les filaments voisins participent en rien à sa production. Dans les cultures sur gélatine, au contraire, des filaments partent de la pycnide et l'entourent souvent, bien que celle-ci soit en somme formée par un filament axile (fig. 2).

L'examen de l'eau contenue dans le fond des tubes de culture de pomme de terre montre clairement déjà un mode intéressant de développement des pycnides : c'est la formation

directe aux dépens d'une cellule de levure. On peut voir tous les passages permettant d'affirmer la chose. Une cellule de levure se gonfle et s'arrondit jusqu'à devenir tout à fait sphérique. Un filament en part d'un côté ou même des deux côtés. La cellule initiale reste bien visible, grossissant encore, souvent déjà divisée en deux par une cloison transversale ou oblique. Dès lors, la pycnide se différencie. Tandis que les filaments mycéliens s'allongent assez lentement, le massif du centre se forme : d'abord quatre à huit cellules assez grandes, puis peu à peu par division irrégulière un corps cellulaire, ordinairement tout à fait incolore, quelquefois légèrement cutinisé, dont les cellules sont petites et polygonales, et laissent apercevoir déjà par transparence des granulations qui sont des stylospores (fig. 3). Les filaments vont en diminuant de diamètre de chaque côté. Nulle part je n'ai vu d'ouverture à la pycnide, mais la préparation est remplie de cellules singulièrement semblables à des stylospores. Une fois développées, ces pycnides sont parfois un peu confuses et mal limitées.

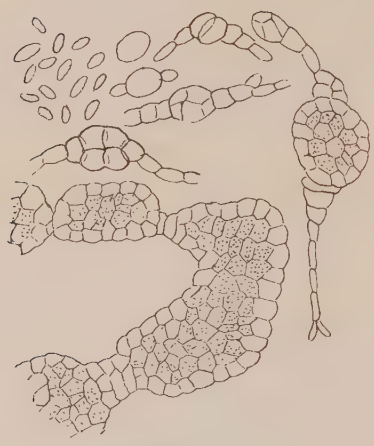

Fig. 3. — Développement des pycnides immergées (eau du fond des tubes de pomme de terre).

Dans certains cas même, la formation pycnidaire ne se borne pas là : la division en massif continue même sur les branches qui partent du centre et peut se prolonger assez loin, en sorte que l'on a sous les yeux un véritable réseau de pycnides, avec des parties plus ou moins renflées, mais provenant toujours d'un centre initial qui est la levure semée. Le tout est incolore ou rarement coloré ; cependant il arrive qu'après la division en quelques cellules assez grosses, la

cutinisation se fait; on se croirait alors en face d'une des formes macrosporioïdes développées le long d'un filament: analogie à retenir entre les pycnides et le mycélium durable que je rapprocherai plus loin.

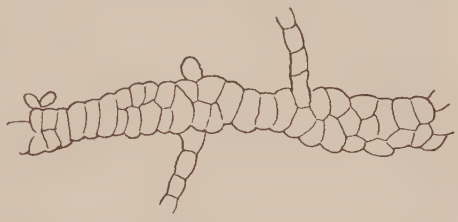

Fig. 4. — Branche mycélienne immergée (eau de pomme de terre). Tendance à la formation de pycnides.

Du reste, des branches entières de mycélium ont parfois une tendance à se diviser dans d'autres directions que le sens transversal : il s'ensuit des aspects spéciaux de mycélium qui sont probablement une étape vers la formation des pycnides (fig. 4.)

Fig. 5. — Culture en cellule sur eau de pomme de terre. — Groupe cellulaire tendant à la formation des pycnides : *a*, première observation; *b*, cinq heures après; *c*, douze heures après ; *d*, vingt heures après.

Vérifions ces faits par la culture en cellule. Après la première germination et l'allongement en un ou deux filaments, la cellule initiale renflée se cloisonne et forme un petit massif, d'abord composé de quelques éléments assez gros, puis subdivisé en petites cellules polygonales, fines. Mais ces cellules bourgeonnent ici plus ou moins et deviennent le point de départ de filaments peu nombreux qui s'anastomosent entre eux, ou avec des branches mycéliennes voisines. Ces branches paraissent souvent provenir de filaments étrangers qui se jetteraient

sur la pycnide ; mais en réalité, c'est elle qui les produit.

Au bout de quelque temps des filaments assez nombreux peuvent ramper autour de la pycnide et en renforcer la paroi, mais il ne semble pas que ce soit là un phénomène essentiel, car le nombre et la disposition de ces filaments varient beaucoup.

Quelque temps après, les pycnides commencent à se former d'une façon très analogue sur divers points des filaments, par division d'une cellule unique ou d'un petit

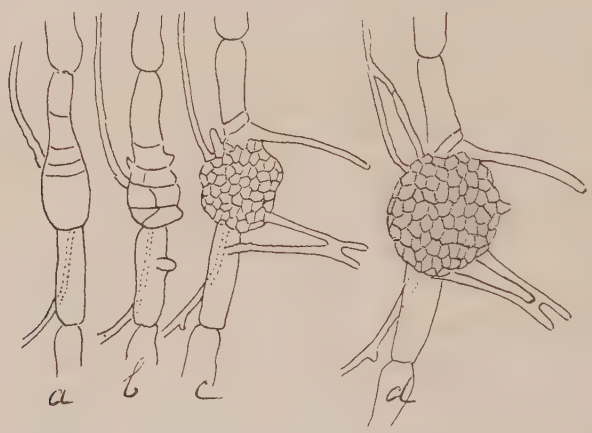

Fig. 6. — Culture en cellule sur eau de pomme de terre. — Formation des pycnides : *a*, première observation ; *b*, douze heures après ; *c*, vingt-quatre heures après ; *d*, quarante heures après.

nombre de cellules. Peu de filaments annexes (fig. 5, 6). Ces pycnides du mycélium peuvent être nombreuses et former des séries. Cela est rare dans les cultures en cellule.

Toutes les pycnides ne s'ouvrent pas ; la plupart cependant émettent des stylospores. Si le milieu n'est pas épuisé, celles-ci germent aussitôt. Leur germination est semblable à celle des formes-levures.

Ce mode de développement ne diffère en somme que fort peu de ceux qu'ont décrits Bauke (1) pour les pycnides et

(1) Bauke, *Beiträge zur Kenntniss der Pycniden* (Nova acta der cœs. Leop. Car. deutsch. Akad. d. Naturf. Halle 38, n° 5).

Van Tieghem (1) pour une spermogonie. Van Tieghem a montré aussi chez les *Chætomium* (2), que les périthèces présentent, suivant la nature du milieu nutritif, les deux modes de développement, complet et simplifié, enveloppé ou non enveloppé, que Bauke indique pour les pycnides des *Cucurbitaria*.

Il importe de noter ici :

1° La possibilité du développement direct aux dépens de la cellule semée ;

2° L'absence parfois tout à fait complète de tout revêtement d'origine extérieure ;

3° Le bourgeonnement des cellules de la pycnide même, dont les filaments vont au devant des filaments voisins ;

4° L'action de l'immersion paraissant simplifier le développement.

d. — **Stylospores.** — Les stylospores formées dans les pycnides sont fort petites (5 à 7 μ sur 2 à 3 à la sortie), mais elles grossissent très rapidement (cinq heures après 8 à 9 μ sur 4 ou 5), et deviennent alors un peu granuleuses et analogues à des levures. La distinction peut devenir difficile lorsque les deux éléments sont mélangés, mais les stylospores sont toutes semblables, plus ou moins cylindriques, tandis que les levures sont assez inégales de dimensions, ordinairement plus allongées que les stylospores, plus renflées aussi, à double contour plus net.

Les stylospores, une fois sorties de la pycnide dans la petite masse gélatineuse qui les accompagne, se divisent souvent en deux (rarement trois) par une ou deux cloisons transversales, soit en conservant leur forme ovoïde, soit en s'étranglant légèrement au niveau des cloisons. En outre, si les conditions ne sont pas favorables à leur germination immédiate, elles se colorent en se cutinisant assez

(1) Van Tieghem. *Sur le développement de quelques Ascomycètes*, 3e partie : *Développement d'une Spermogonie* (Bull. de la Soc. bot. de France, 1877, p. 203).

(2) Van Tieghem, *Nouvelles observations sur le développement du périthèce des Chætomium* (Bull. de la Soc. bot. de France, 1876, p. 364).

fortement, et contribuent ainsi pour leur part au noircissement des cultures. La coloration varie dans d'assez larges limites : elle est généralement foncée, car la cutinisation est rapide.

Ces stylospores cutinisées forment autour des pycnides anciennes des amas quelquefois très volumineux englobés dans une masse mucilagineuse générale.

Lorsque les stylospores vont germer, elles deviennent à peu près sphériques (vingt-quatre heures), atteignent 8 à 9 μ sur 7 à 8 et donnent un à trois filaments. Souvent une cellule plus grosse se sépare à la base de ceux-ci. Puis le développement se fait comme s'il s'agissait d'une forme-levure.

Les cultures en cellule un peu anciennes (une douzaine de jours) montrent le champignon bien développé, et permettent de constater la continuité entre les divers modes de fructification : les levures d'où l'on est parti, — les pycnides formées (surtout abondantes dans les parties centrales de la culture et émettant par leur ouverture des quantités de stylospores en amas, agglomérées dans une masse gélatineuse), — ces mêmes stylospores déjà plus ou moins fortement cutinisées, — le mycélium durable protéiforme (en cellules intercalaires, filaments plus ou moins longs, bouquets irréguliers, formes *Macrosporium*, *Alternaria* irréguliers, etc., etc.). Tout cela dans la gouttelette d'eau de pomme de terre servant de milieu de culture, et surtout vers les régions excentriques. Enfin de véritables *Alternaria* différenciés, en files régulières et se montrant d'ordinaire hors du liquide, mais toujours en continuité avec le mycélium blanc, ramifié, qui réunit toutes ces formes et en démontre la commune origine.

Certains groupes de cellules cutinisées peu adhérentes ou même se séparant les unes des autres, constituent fréquemment aussi des paquets tout à fait analogues à des *Fumago*, ce qui donne une nouvelle forme végétative que l'on retrouvera d'ailleurs plus nette et plus intéressante

encore dans les cultures sur certains milieux spéciaux.

En somme, quand on sème en cellule sur eau de pomme de terre des formes-levures de cet *Alternaria,* elles se comportent très diversement :

Les unes grossissent et constituent simplement la spore initiale d'un filament qui s'allonge et se ramifie.

D'autres donnent un massif par division, grossissent, épaississent leurs parois, se cutinisent fortement, émettent aussi des bourgeons, forment en somme une sorte de *Macrosporium* initial.

D'autres se divisent également en un massif, mais à cellules plus petites, moins vite et moins fortement cutinisées et qui, bientôt, laisse échapper des stylospores. Ce sont des pycnides initiales d'où sont aussi partis deux ou trois filaments ramifiés fortement. On voit ainsi que la spore en massif peut être considérée comme un stade d'arrêt dans le développement des pycnides. C'est un point qui sera étudié plus loin.

Enfin, la levure peut aussi végéter en levure (chose assez rare en cellule), ou se gonfler simplement et rester alors stationnaire sans que la raison de ces différences apparaisse nettement.

Quel que soit le groupe initial, dont l'origine primordiale est toujours, on le voit, une cellule de levure, les filaments mycéliens peuvent porter divers ordres d'organes : autres pycnides qui se développent de loin en loin, formes macrosporioïdes, *Alternaria*, etc.

2. — CULTURE EN CELLULE SUR MILIEUX DIVERS

Les cultures en cellules ont été tentées sur divers autres milieux. J'en citerai seulement deux ou trois.

Culture sur gomme. — Germination rapide. Un ou deux prolongements simples contenant des granulations très visibles : parfois aspect d'une sorte de spermatozoïde. Puis ramification ; filaments très longs par rapport au diamètre.

La forme-levure initiale gonflée contient une grosse gouttelette centrale et ne devient granuleuse qu'après avoir germé. Elle peut rester simple ou se cloisonner une ou deux fois et se colorer ou encore se diviser soit en files, soit ordinairement en groupes. En même temps, les ramifications se renflent sur divers points en formes macrosporioïdes et alternarioïdes variées. Le groupe central, procédant de la cellule de semis est le plus souvent très foncé, formé de quelques cellules seulement, plus ou moins sphériques; aspect d'un gros *Fumago* plutôt que d'un *Macrosporium*, mais d'un *Fumago* d'où partirait un long mycélium (fig. 7). Quelques-uns de ces groupes semblent avoir une tendance à former des pycnides; il y a même (rarement) quelques pycnides nettes, mais non formation de stylospores.

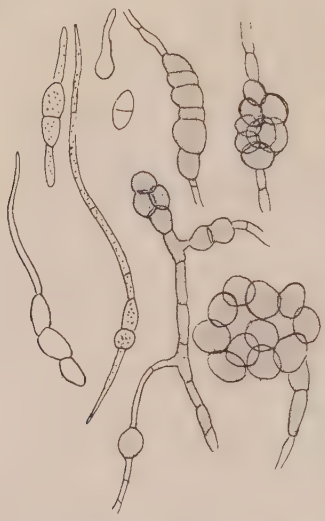

Fig. 7. — Culture en cellule sur solution de gomme. Transformation de la levure primitive en groupe fumagoïde.

Culture sur dextrine. — Rameaux analogues à ceux de la gomme ; mais quelques différences. Les pycnides se forment ici plus nettement et aboutissent à l'émission de stylospores. En outre, le mycélium sporiforme est plus rare, encore qu'assez abondant ; surtout les amas initiaux, formés par la levure primitive, ne sont plus que rarement fumagoïdes et se rapprochent davantage des formes macrosporioïdes. Mais c'est une question de nuances et de proportions et, en somme, les deux cultures se ressemblent beaucoup (fig. 8). Les ramifications, très nombreuses, se terminent d'ordinaire par une forme macrosporioïde.

Culture sur acétate de sodium. — Elle permet d'observer facilement la transformation directe des formes-levures en corps macrosporioïdes. On voit d'abord les levures se gon-

fler un peu, se diviser en deux ou trois cellules, s'allonger en un filament assez long, puis ramifié. Le plus souvent, il y a deux ou trois cellules arrondies à la file avant d'arriver à la forme cylindrique : puis l'accroissement en longueur s'arrête, les cellules se cutinisent peu à peu assez fortement, mais en même temps se

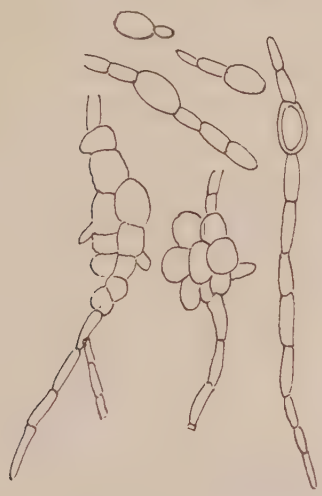

Fig. 8. — Culture en cellule sur dextrine. — Massif cellulaire provenant de la levure primitive (le massif central est cutinisé).

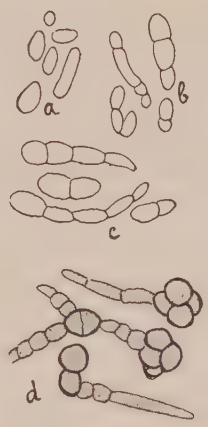

Fig. 9. — Culture en cellule sur acétate de sodium : *a*, semis ; *b*, vingt-quatre heures ; *c*, trente heures ; *d*, un mois.

multiplient et se séparent à mesure les unes des autres, en sorte qu'il est rare de les voir par files de trois ou plus ; elles sont d'ordinaire ou simples ou divisées en deux par une cloison. Il est à remarquer qu'à ce moment ces éléments en amas autour des cellules de levure initiales cutinisées aussi, sont absolument identiques aux stylospores que l'on voit dans les cultures anciennes sur pomme de terre. Ces cellules septées peuvent continuer à se multiplier ainsi. Mais la levure initiale d'où part le filament a subi souvent une transformation : la division s'est faite dans plusieurs sens et la cutinisation s'est accentuée jusqu'à la coloration brun foncé, presque noir. On a alors un massif

cellulaire offrant la disposition des formes macrosporioïdes et développé directement aux dépens de la levure initiale (fig. 9).

Si le massif formé ne comprend que quelques cellules sans régularité et si le filament est très court, on arrive à un aspect fumagoïde.

La sortie des éléments cellulaires hors de l'enveloppe cuticulaire, si remarquable dans les cultures sur acétate de sodium en tube (Pl. I, fig. 10), est ici assez rare, mais elle existe cependant. Le mucilage abonde et forme sous les cellules une sorte de membrane amorphe, très légèrement teintée de brun.

On remarquera que ce mode de végétation est dû absolument au milieu, car sur cette même cellule de culture, on trouve, soit dans l'eau du fond, soit sur les bords de la lamelle en dehors de l'acétate de sodium, les formes ordinaires de végétation (pycnides, *Macrosporium*, *Alternaria*, etc.). (Pl. I, fig. 11).

VI. — MODIFICATIONS MORPHOLOGIQUES DANS LES DIVERS MILIEUX

1. — MILIEUX A VÉGÉTATION POLYMORPHE

La pomme de terre nous a montré un polymorphisme extrême de l'espèce sur les cultures anciennes : levures roses, levures cutinisées, pycnides et stylospores cutinisées ou non, formes macrosporioïdes et alternarioïdes, *Alternaria* typiques, formes fumagoïdes, le tout sur un mycélium plus ou moins vite coloré.

Ce polymorphisme se retrouve dans quelques milieux, tandis que d'autres spécialisent ces aspects ou en présentent même de nouveaux.

Toutes les eaux distillées (sauf celle de cannelle) ont offert des formes très variées : aspects divers du mycélium durable (sauf les *Fumago*), pycnides, levures, etc. Cependant, la cutinisation s'est montrée très faible dans l'eau distillée

de mélisse, chez laquelle les pycnides et le mycélium sont restés presque incolores ; quelques formes *Macrosporium* y représentent seules le mycélium de résistance.

L'eau distillée elle-même donne une végétation très polymorphe, ainsi que les glycérophosphates, qu'ils soient mono ou disodiques (on remarquera que ni l'acide glycérophosphorique, ni la soude n'ont rien donné). Le sulfate de magnésium, le chlorure de sodium, le gaïacol, le sulfate de quinine, le chlorhydrate de cocaïne, la gomme, la dextrine, rentrent dans la même catégorie, avec quelques différences en plus ou en moins.

Les milieux nutritifs solides (gélose, gélatine, moût gélatiné) n'ont, au contraire, donné que du mycélium incolore avec quelques pycnides, qui ont même manqué dans certaines cultures. Les formes de mycélium durable ont fait complètement défaut sur ces milieux ainsi que sur le bouillon, le liquide de Raulin, le phosphate acide, l'iodure, l'arséniate de sodium, la liqueur de Fowler, l'alun ; chez d'autres, elles ne sont représentées que par des *Fumago* (acides citrique et gallique). (Pl. I, fig. 12, 13.)

Examinons maintenant les modifications que cette espèce a pu subir dans les divers milieux, en groupant les faits autour de chaque forme principale du champignon.

2. — FORMES-LEVURES

Les levures du semis se retrouvent très souvent dans les liquides, même après un temps assez long.

Cette conservation des formes-levures dans certains milieux défavorables est très remarquable. Malgré la finesse de leurs parois, malgré leur peu de résistance vitale, ces levures, après avoir un peu grossi et tenté parfois de germer, conservent leur aspect, même longtemps après leur mort. Dans l'acide sulfurique à 1 p. 100, dans l'acide tartrique, dans la soude, etc., etc., ces formes-levures (ou ces

stylospores, car on a peut-être semé les deux) ont fini par périr et n'ont rien donné au semis de contrôle. Mais en examinant le liquide du fond du tube, on les retrouve en apparence intactes dans la plupart de ces milieux.

La végétation en levure se fait, semble-t-il, principalement dans les liquides (sauf sur la pomme de terre). Aussi, dans telle culture (bromure de sodium) les préparations du fond en offrent en quantité, celles de la surface en sont tout à fait dépourvues.

3. — PYCNIDES

Les pycnides ont manqué souvent (1). D'autres fois, elles ont été les seuls organes reproducteurs (2).

Elles se prêtent mal à une description générale, à cause de leur variabilité même :

Elles diffèrent en effet :

1° *Par la dimension.* — Il y a là d'abord une question d'âge, Mais si, dans une même préparation, on compare les pycnides de même coloration, noirâtre par exemple, on voit que les dimensions varient depuis 20 μ sur 30 jusqu'à 250 μ sur 350 et même plus, avec tous les termes entre ces extrêmes. Il est donc tout à fait impossible de séparer des espèces par ce caractère. Dans la plupart des milieux il en est de même.

2° *Par la forme.* — Souvent arrondies, presque sphériques, ordinairement un peu oblongues, parfois assez irrégulières, surtout lorsqu'elles sont en séries ou dans les termes de passages entre elles et les spores en massifs. Il ne semble pas que le milieu ait une grande action sur cette forme qui varie souvent dans la même préparation.

3° *Par la déhiscence.* — La présence ou l'absence d'un

(1) Mannite, eau glycérinée, série des acides, phosphate acide de sodium, iodure de sodium, liqueur de Fowler, alun, créosote, cocaïne, et tous les milieux à végétation stérile.

(2) Gélose, moût gélatiné, bouillon, liquide de Raulin.

goulot coloré ou non, paraît en général chose importante dans l'étude des pycnides. Ici l'orifice unique (ordinairement) ou double, s'établit fréquemment sans aucune saillie ; d'autres fois, le col est des plus nets : on en trouve parfois deux, jamais trois.

Les orifices peuvent d'ailleurs être très apparents sans qu'il y ait de col. Celui-ci peut être représenté aussi par quelques cellules transparentes et dressées, mais très délicates et sans consistance, ou bien il existe une petite couronne beaucoup plus nette, légèrement teintée si la pycnide est incolore, plus foncée si elle est colorée. Dans les cultures sur les eaux distillées, les pycnides sont en général très pâles, quelquefois tout à fait blanches, et les orifices ordinairement bien visibles.

D'autres fois, aucune saillie, mais les cellules sont arrangées en cercle autour d'un point où se fera l'ouverture pycnidaire. Une légère coloration jaune peut aussi entourer ces points sur des pycnides blanches. Enfin, l'aspect est souvent tout à fait uniforme et rien n'indique le point de la future déhiscence.

4° *Par la couleur.* — Très variable suivant l'âge et le milieu. Chez certaines pycnides, qui paraissent d'ailleurs ne pas s'ouvrir et rester à l'état d'un massif cellulaire à développement arrêté, les cellules sont incolores sur le trajet d'un filament immergé, les parois cellulaires sont minces et les cellules elles-mêmes nombreuses et petites. Émergées, elles subissent une cutinisation tantôt rapide, tantôt, et ordinairement, plus lente, et passent par diverses teintes : jaune clair, jaune brun, brun cannelle, brun foncé, noirâtre (1).

(1) Si la cutinisation des filaments se fait dans des milieux où elle n'a pas lieu d'ordinaire, c'est au contact des éléments reproducteurs. Dans ce cas les pycnides et surtout les formes nettes du mycélium durable (*Macrosporium* ou *Alternaria*) sont portées sur des ramifications mycéliennes toujours cutinisées, mais qui, souvent, perdent leur cutine à une certaine distance de la pycnide ou de la spore. Le pédoncule des pycnides, lorsqu'il est visible, est toujours plus cutinisé qu'elles-mêmes. Enfin, il est très fréquent que les formes diverses de mycélium durable soient plus abondantes, plus serrées autour des pycnides.

Cette coloration peut être uniforme : souvent, elle est accentuée suivant un cercle ou deux, au centre desquels se fera l'ouverture de la pycnide, ou sur le col pycnidaire, s'il existe, ce qui est loin d'être la règle. La cutinisation complète se voit sur les vieilles cultures (pomme de terre) où les pycnides deviennent à la fin d'un noir foncé et tout à fait opaques (Pl. I, fig. 3 et 11).

5° *Par le nombre.* — Sur la culture type, elles sont innombrables et se multiplient à l'infini dès le début. Leur formation semble s'arrêter au moment où commence à s'établir le mycélium durable sous ses diverses formes. Dans les cultures en liquides chimiques l'abondance varie beaucoup : on a vu qu'elles faisaient parfois complètement défaut, même lorsque la végétation générale était vigoureuse (créosote, alun, etc.). Chez d'autres, on en trouve çà et là quelques-unes (arséniate de sodium). Chez d'autres enfin elles abondent et constituent la forme la plus ordinaire de reproduction (liquide de Raulin). Le nombre n'est d'ailleurs pas en rapport avec la coloration ; elles sont souvent très abondantes et à peu près incolores (bouillon, eau distillée de mélisse).

6° *Par la structure.* — Sans parler des formes de passage, si curieuses, entre les pycnides et les spores en massif (Pl. I, fig. 2), on peut constater que certaines pycnides sont constituées par des cellules assez grosses et à parois relativement épaisses. D'autres, au contraire, surtout parmi les moins colorées, sont formées de cellules beaucoup plus petites, à parois délicates et fines.

Il ne s'agit pas, bien entendu, de deux sortes de pycnides, mais de différences que les intermédiaires effacent; pour ce caractère comme pour les autres, on peut observer tous les passages. Seulement, le milieu joue un rôle important, car les pycnides des deux ordres ne se trouvent guère dans le même liquide, et les passages se rencontrent dans des milieux différents. L'immersion et l'émersion sont aussi de grande importance, non seulement pour l'aspect, mais aussi pour le mode de formation des pycnides.

7° *Par la netteté du contour.* — La plupart des pycnides, surtout celles qui remplacent un ou plusieurs articles de mycélium durable, sont nettement limitées. D'autres, à cellules plus petites, peu colorées d'ordinaire, sont beaucoup moins bien indiquées et leur circonférence extérieure s'estompe. Chez d'autres enfin, le contour s'efface peu à peu, la paroi semble se dissocier sous forme de granulations, et l'on trouve dans la préparation des groupes de stylospores en paquets plus ou moins colorés, mais peu nets, dépourvus de paroi pycnidaire commune.

8° *Par l'origine.* — Les unes naissent directement aux dépens de la forme-levure ou de la stylospore semée, les autres se développent sur le trajet des filaments. Les deux types existent d'ailleurs dans la même préparation.

9° *Par le développement* — Les unes sont simplement formées par un massif cellulaire provenant de la division d'une cellule primitive, les autres donnent naissance à des filaments en nombre variable qui les entourent plus ou moins.

10° *Par le groupement.* — Ordinairement chaque pycnide est indépendante et isolée. On a vu cependant qu'il pouvait se former des séries de pycnides, soit par transformation des rameaux rayonnants autour de la pycnide centrale, soit par renflements successifs sur un même rameau. Mais les rapports peuvent être plus intimes encore. Dans les membranes du fond des tubes de pomme de terre, les pycnides s'unissent parfois en groupes ; 3, 4, 5 pycnides forment ainsi une masse assez mal limitée d'ailleurs, dans laquelle des cercles cellulaires indiquent chacune des pycnides, et où une enveloppe commune entoure le tout. Peut-être ces groupes se forment-ils ici par accolement et fusion de pycnides primitivement en séries (ainsi qu'on l'a vu pour leur formation), puis arrivant au contact et s'entourant d'une zone commune de cellules. Il ne semble pas que ce soient là les pycnides composées de Bauke (1). Mais celles-ci ne paraissent

(1) Bauke, *loc. cit.*

pas avoir une entité bien réelle, car elles ne se forment que dans certaines conditions, et sont simples dans la nature. Cette distinction des pycnides en simples et composées laisse donc beaucoup à désirer.

11° *Par la fertilité.* — Certaines formes de pycnides paraissent demeurer stériles. D'abord celles qui se développent dans l'eau de pomme de terre (membranes immergées) restent blanches, irrégulières, sont formées aux dépens de la levure initiale ou du mycélium qui en part, et ne s'ouvrent pas; mais, même à la surface, dans certains liquides (glycérophosphate disodique), il se forme des sphères régulières, pluricellulaires, nettement limitées, à cellules polyédriques, qui se cutinisent fortement sans s'ouvrir, gardant à part cela tous les caractères des pycnides. Dans le sulfate de magnésium, il en est de même, mais la cutinisation est faible et les pycnides, nettement développées par division d'une forme-levure, restent à l'état de massif cellulaire légèrement jaunâtre.

4. — APPAREIL MYCÉLIEN

a. — **Cutinisation.** — Le mycélium ordinaire est formé de filaments d'abord fins, allongés, incolores, qui bientôt se cutinisent, soit par places soit en totalité, et passent, comme on l'a vu, aux formes de mycélium durable. Sur la pomme de terre, la cutinisation ne dépasse pas un certain degré. Mais si l'on fait varier le liquide de culture, on obtient des modifications correspondantes. Dans la même culture, les préparations des parties immergées montrent abondance de filaments blancs et offrent des régions de mycélium durable peu différencié, des files de cellules sur un rang par exemple, ou des amas fumagoïdes simples, tandis qu'à la surface du même liquide les formes se compliquent de plus en plus et que, dans l'ensemble, l'aspect est tout à fait différent (glycérophosphate de sodium).

Il arrive aussi que la cutinisation ne se fait pas du tout et

que le mycélium reste entièrement blanc (phosphate acide de sodium, acide borique, etc., etc.) ou presque entièrement (chlorure de baryum), et dans ce cas il est d'ordinaire stérile ou à peu près ; ou au contraire la cutinisation est totale au bout de quelque temps (diverses végétations fumagoïdes, sulfate de quinine, dextrine, etc., etc.) Les parties du mycélium qui portent des spores en massif sont toujours cutinisées au voisinage de celles-ci. Mais il se peut qu'un mycélium cutinisé soit stérile (acétate de soude à 10 p. 100). Souvent il reste des cellules blanches entre les régions colorées.

b. — **Mucilage. — Sortie des cellules hors de la cuticule.** — Le mucilage abonde dans certaines cultures. On a vu que les stylospores sortaient des pycnides au milieu d'une atmosphère mucilagineuse. Pour ne pas revenir sur les faits déjà indiqués dans les généralités, il suffit de rappeler la fréquence de la gélification dans les membranes, de dire que les cultures dans la quinine, la gomme, en donnent de bons exemples et d'ajouter que le phénomène si spécial de la sortie des cellules hors de la cuticule, s'observe aussi dans cette espèce. L'on peut prendre comme exemple la culture dans l'acétate de soude à 10 p. 100. Dans cette solution un peu concentrée le mycélium prend un aspect particulier; les éléments colorés sont alternativement cylindriques ou sphériques, parfois irréguliers, mais jamais de formes macrosporioïdes ou alternarioïdes ; jamais non plus on ne voit de pycnides ni d'amas de cellules en *Fumago* (Pl. I, fig. 10). Articles sphériques, en série ou séparés par un ou plusieurs segments allongés; coloration brun clair, violacée.

Dans cette préparation, on peut suivre pas à pas la sortie des éléments incolores hors de l'enveloppe brune. Celle-ci se fend sur un point, tout spécialement chez les cellules sphériques, la petite sphère blanche apparaît et sort peu à peu, puis s'entoure d'une membrane assez épaisse, à double contour et d'une auréole de mucilage qui peut quelquefois devenir très large. En même temps, elle s'emplit de granu-

lations et de gouttelettes graisseuses très abondantes. Le protoplasma se divise souvent en deux parties. La germination de ces petites sphères dans le liquide paraît rare, mais je l'ai vue cependant.

5. — VARIATIONS DU THALLE

La couleur n'est pas le seul caractère qui se modifie dans le mycélium de cette espèce. Les articles normaux sont allongés et cylindriques, sans caractéristique nette, rappelant, quand ils sont cutinisés, les filaments de *Cladosporium*. Mais souvent les articles de ce mycélium deviennent gros et courts, presque isodiamétriques parfois (milieux nutritifs solides artificiels ; lactophosphate, glycérophosphates, iodure, arséniate de sodium ; créosote, etc.) ou allongés mais renflés en biscuit aux extrémités, et articulés par simple contact (cas fréquent), ou irrégulièrement arrondis (bouillon, alun, lacto et glycérophosphate, iodure de sodium, etc.), ou enfin devenant franchement toruleux (lactophosphate de calcium, acétate, chlorure, bromure de sodium, chlorure d'ammonium, ferrocyanure de potassium, alun), en totalité ou par places. Dans quelques préparations (gélose, bouillon), certains articles mycéliens volumineux ont une tendance à se séparer les uns des autres et sont très faiblement articulés, constituant des sortes d'oïdies incolores ; dans d'autres, la séparation s'effectue plus ou moins complètement, mais après cutinisation, et l'on arrive à la végétation fumagoïde déjà indiquée. Les cellules mycéliennes peuvent encore s'enkyster ou prendre des formes de dégénérescence.

Voyons, avant d'aller plus loin, quelques exemples de ces diverses formes.

a. — **Mycélium stérile.** — Souvent banal. Il est plus intéressant dans le ferrocyanure de potassium. La culture est absolument stérile, en voile superficiel blanchâtre ; filaments toruleux qui vont en diminuant de diamètre et formés de

cellules ovoïdes ou arrondies, articulées, très distinctes : les extrémités s'effilent et les éléments y deviennent cylindriques (fig. 10). Le centre de la végétation est un amas

Fig. 10. — Culture dans le ferrocyanure de potassium.

assez peu volumineux, enchevêtrement de filaments provenant tous d'un groupe de cellules initiales.

Cultivée en cellule sur ce milieu, la levure se gonfle, puis germe, et les premiers articles sont toruleux : mais bientôt le filament s'allonge, se ramifie en restant très fin et cylindrique ; il donne, près ou loin du centre, des formes macrosporioïdes et surtout alternarioïdes. Mais ici les filaments émergent hors de la gouttelette. La végétation immergée est donc seule stérile.

b. — **Renflements mycéliens. Fragmentation du mycélium.** — Dans les vieilles cultures d'*Alternaria polymorpha* sur pomme de terre, des régions entières du mycélium voient leurs cellules se renfler, s'entourer d'un double contour très net, rester pendant quelque temps unies en chaînettes plus ou moins longues et enfin se séparer en petites sphères assez souvent déformées et un peu irrégulières, isolées ou par petits groupes. C'est la cellule entière qui grossit et se sépare : ce sont sans doute des sortes d'oïdies

plutôt que de simples renflements, bien que le contenu semble peu vivant.

Dans les cultures sur gélose, gélatine et autres milieux

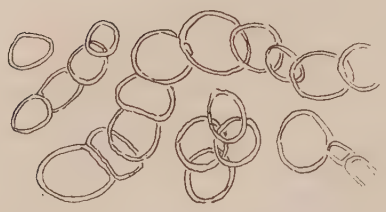

Fig. 11. — Culture ancienne sur pomme de terre. Fragmentation du mycélium.

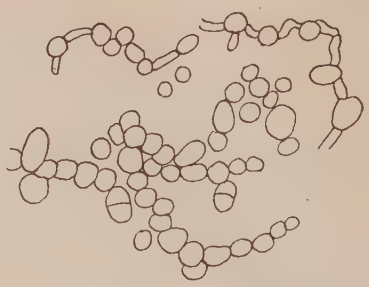

Fig. 12. — Culture ancienne sur pomme de terre. Fragmentation du mycélium.

nutritifs les renflements mycéliens abondent au bout de quelque temps au point de remplir complètement la préparation. Ici le renflement porte rarement sur la totalité de la cellule mais tantôt sur une extrémité tantôt sur les deux. La cellule est alors en massue ou en biscuit : la première forme est fréquente : le renflement se produit d'abord à une extrémité ; puis gagne de proche en proche : en même temps la paroi cellulaire s'épaissit dans la partie renflée, et l'épaississement gagne peu à peu toute la cellule qui, dès lors, se détache souvent du filament mycélien.

Dans les milieux ci-dessus le mycélium ne se cutinise pas, mais dans d'autres les articles mycéliens gros et courts ont tendance à la fois à la cutinisation et à la séparation. On arrive ainsi à la forme fumagoïde : les articles du filament se séparent par groupes, par files de deux ou de quelques cellules, ou s'égrènent isolément (Pl. I, fig. 1).

Parfois aussi la cutinisation n'arrive qu'ensuite sur des articles déjà séparés, analogues aux oïdies, mais plus petits, un peu déformés souvent, et toujours à double contour fin et net.

D'autres fois enfin, quelques cellules seulement, dans un cordon cellulaire, peuvent s'arrondir, se cutiniser,

se séparer. On arrive à la chlamydospore (Pl. I, fig. 4).

c. — **Oïdies.** — Le mode de propagation par des articles terminaux de filaments blancs détachés et à membrane épaisse paraît assez fréquent chez cette espèce.

En voici quelques exemples :

Dans la solution de *créosote*, la grande masse est un mycélium blanc, fin, cylindrique, stérile, mais avec régions toruleuses (articles renflés sur tout ou partie de leur longueur). Très souvent ces articles (tout petits) se détachent à l'extrémité et germent dans la préparation même. Il y a là comme une sorte de *sporulation*.

Suivons cette déhiscence dans la solution d'*alun* : on voit une cellule présenter 2 ou 3 étranglements, d'abord sans vraie membrane de séparation, puis celle-ci apparaît nette comme une ligne noire ; cette ligne est ensuite remplacée par une zone mucilagineuse réfringente et transparente ; les 2 cellules ne sont plus reliées que par une région de mucilage épais qui pourra plus tard se dissocier. La cellule ainsi formée grandit et se divise par

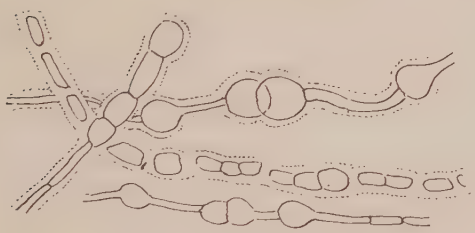

Fig. 13. — Culture dans l'alun. Séparation des cellules par gélification.

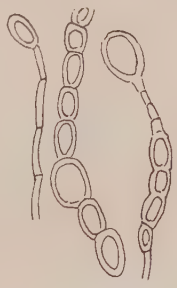

Fig. 14. — Culture dans l'arséniate de sodium.

une cloison non gélifiée en 2 ou 3 cellules entourées d'un mucilage commun (fig. 13).

Dans l'*arséniate de sodium*, la végétation est très peu active : on trouve de vagues et rares amas (pycnides irrégulières) des filaments blancs, allongés, à cellules très inégales, souvent renflées et volumineuses, et à double contour (fig. 14). A l'extrémité des filaments ces cellules ressemblent à de

grosses spores, elles se détachent isolément ou par files de 2 ou 3 et plus, soit par chute de l'extrémité d'un filament, soit par désagrégation d'un filament toruleux. Elles ressemblent alors beaucoup à certaines cellules gonflées vues dans l'acide glycérophosphorique : il semble même que certains éléments aient tendance à émettre leur contenu.

d. — **Formes fumagoïdes et enkystées.** — Parfois la forme fumagoïde est prise par les stylospores et par les levures elles-mêmes, qui donnent, par une multiplication limitée, par enkystement ou par cutinisation plus ou moins forte, des aspects de ce genre. D'autres fois, sous l'influence de certains milieux de culture, c'est tout le mycélium qui semble ainsi s'enkyster par petits groupes. C'est là essentiellement une forme de résistance permettant à la plante d'attendre longtemps des circonstances favorables. Dans l'espèce qui nous occupe cette forme est relativement rare ; on en peut pourtant citer quelques exemples :

Acide citrique. Petits grumeaux de cellules arrondies, un peu irrégulièrement, assez serrées et de couleur inégalement foncée depuis le blanc sale jusqu'au brun, le tout terminé par un petit appendice de 4 ou 5 cellules en série, partant d'un point quelconque du petit paquet irrégulier (Pl. I, fig. 12).

Acide gallique. Il donne toujours des végétations très spéciales : de vagues pycnides foncées se montrent dans les parties sombres, mais la grande masse de cette culture est formée par des stylospores et des formes-levure, ovales, naviculaires, verdâtres ou même rougeâtres, à contenu granuleux, coloré fortement. Beaucoup ont végété en levure, ou se sont divisées en 2 ou 3 par un commencement de germination bientôt arrêté. Chacun des éléments a conservé sa forme : les stylospores ont un double contour et la paroi en est peu ou pas épaissie : mais chaque cellule est entourée d'une auréole de mucilage qui l'isole après bourgeonnement. Les formes-levures grossissent, deviennent rondes, leur paroi s'épaissit beaucoup sans se cutiniser, la

membrane externe se rompt souvent et la cellule fait plus ou moins saillie au dehors (Pl. I, fig. 13). Il y a là un remarquable phénomène de convergence avec ce qui sera vu à propos du *Dematium pullulans* dont les formes-levures subissent cette même modification. Toutes ces spores ou levures étant séparées ou à peu près et la cutinisation très faible, ce n'est pas là une forme *Fumago* proprement dite, mais une sorte d'enkystement. Les filaments mycéliens sont fort rares et courts. Aucune forme de mycélium durable.

Il est intéressant de constater que le *tannin* donne un aspect tout à fait analogue : grand nombre de stylospores, grosses cellules enkystées, granuleuses. L'ensemble forme un dépôt brunâtre.

Un enkystement du même ordre, mais avec cutinisation, légère, s'est fait sur les pommes de terre imprégnées de la solution d'acétate de soude à 1 p. 100.

Dans le *lactophosphate de calcium*, les filaments qui deviennent rapidement bruns, sont ordinairement formés d'articles renflés en biscuit, mais de nombreuses cellules intercalaires, isolées ou en série, arrondies ou ovales, plus fortement cutinisées que les autres, se montrent çà et là au milieu des filaments, se multiplient plus abondamment vers la surface du liquide et constituent de petits amas à éléments dissociés ou faiblement unis. C'est encore là une forme plus ou moins fumagoïde qui, à première vue, a l'air d'une pycnide noire. Les formes différenciées de mycélium durable n'existent pas ; tendance tout au plus sur quelques points.

Fig. 15. — Culture dans l'acide glycérophosphorique.

Dans l'*acide glycérophosphorique*, milieu d'ordinaire très défavorable, la germination ne s'est pas faite et la levure s'est simplement enkystée : cellules assez volumineuses (3-10 μ) à double contour net, contenant des granulations ou des corps brillants, ayant souvent, au premier coup d'œil, l'apparence de gros leucocytes et tout à fait inco-

lores. Quelques-unes alignées par 2 ou 3, ou même plus (commencement de germination qui s'arrête bientôt.) Dans le liquide, des fragments blanchâtres amorphes sont des formes-levures dégénérées et en voie de disparition. Quelques-unes sont restées intactes en apparence. Cet enkystement doit être assez lent, car dans les essais de culture en cellule, je n'ai pu l'obtenir. J'ai vu seulement la levure semée se gonfler peu à peu, puis rester stationnaire et tendre à dégénérer. Les contours s'en effacent très lentement. Il est probable que, dans le flacon d'acide glycérophosphorique, la plupart des germes de cette espèce périssent; quelques-uns seulement ont pu résister et s'enkyster (1).

Sur quelques cellules se voit le phénomène curieux de la sortie du contenu. La paroi du kyste se rompt et une petite sphère en sort. Cela explique l'existence, çà et là, de quelques enveloppes de kystes vides. Il semble que la paroi d'enkystement se reforme très vite autour du globule sorti.

e. — **Mycélium durable et spores en massif.** — J'arrive maintenant à une forme de mycélium durable, que l'on peut appeler « reproductrice ». Voici, par des modifications successives, les cellules mycéliennes sphériques ou renflées, leur division, leurs séries, leur groupement, leurs amas de plus en plus réguliers, et voici enfin les spores en massif. Nous sortons du mycélium proprement dit (Pl. I, fig. 5, 7, 14).

Le nom de *mycélium durable* a été donné aux diverses cellules mycéliennes qui se cutinisent pour constituer des formes de résistance. L'espèce qui nous occupe en ce moment, est certainement une des plus intéressantes pour l'étude de ces formes.

Si l'on examine les cultures sur pomme de terre un peu anciennes, datant par exemple de quelques jours, et surtout si l'on passe en revue quelques cultures typiques à cet égard (eau glycérinée, gaïacol, etc.), on verra qu'une

(1) Du reste la vitalité est ici perdue et le semis de contrôle n'a rien donné.

ligne de démarcation entre le mycélium et la spore est impossible à tracer, surtout pour les formes immergées. Sur le trajet d'un filament mycélien blanc, stérile, une cellule semblable aux autres, cutinise sa paroi, sans modifier ni sa forme ni ses dimensions : c'est déjà du mycélium durable (en même temps que c'est une chlamydospore). Ailleurs, on voit une file de spores d'*Alternaria* avec tous leurs caractères : c'est encore du mycélium durable ; entre ces deux extrêmes on peut observer tous les états.

Le mycélium tout entier chez beaucoup de *Dématiées* rentre donc dans la définition du mycélium durable.

α. — *Cutinisation uniforme.* — Prenons pour exemple la solution de mannite à 10 p. 100 (1) ; c'est un bon substratum, mais sur la membrane noirâtre épaisse, à tomentum blanchâtre qui en recouvre bientôt la surface, on ne trouve aucune pycnide. Des filaments mycéliens, brun clair, fins et déliés, s'y rencontrent, comme aussi quelques *Macrosporium* bien formés ; mais ce qui caractérise cette culture, c'est la cutinisation spéciale de la majorité des filaments. Ceux-ci brunissent fortement, en entier, uniformément et sans modifier la forme de leurs cellules qui sont larges et courtes, carrées, ou même plus larges que longues ; les parois deviennent très épaisses et très foncées, l'ensemble a l'aspect d'un bâtonnet noir (Pl. I, fig. 9). Cependant cette forme n'est pas toujours cylindrique : certaines parties renflées, parfois même formant un vague chapelet, indiquent une tendance à la segmentation en groupe alternarioïde : c'est un terme de passage très intéressant et très spécial. Mais 1° les parties rétrécies du filament le sont très peu, toujours aussi cutinisées que le reste, et 2° il

(1) Il est intéressant d'ajouter que le temps et la dose jouent ici un rôle important. Dans les solutions faibles, on trouve quelques pycnides rondes, quelques formes de spores en massifs et des filaments à cellules courtes, mais le type décrit ne se rencontre que dans les solutions saturées et après un temps fort long. La solution à 10 p. 100, après un mois seulement, offre déjà de nombreux filaments qui se rapprochent de la description ci-dessus ; mais les séries d'*Alternaria* sont encore bien mieux séparées.

n'y a jamais (ou presque jamais) de division cellulaire dans un autre sens que le sens transversal.

Les filaments caractéristiques de cette culture sont enchevêtrés et ramifiés, souvent une et plus rarement deux fois, à angle très ouvert, ordinairement à angle droit. Ils sont quelquefois en continuité avec des filaments plus fins, à cellules ordinaires, de forme et de cutinisation normales.

Ce qui caractérise cette culture, en somme, c'est la proportion de ces filaments, leur presque régularité et leur couleur foncée, car dans d'autres (eau distillée de fleurs d'oranger, par exemple), on trouve des formes analogues, mais moins foncées, moins nombreuses et plus irrégulières.

β. — *Forme Macrosporium.* — Les cellules différenciées par leur renflement et leur cutinisation peuvent se trouver à l'extrémité de certains filaments et jouer, en s'en détachant, le rôle de spores ou de séries de spores, mais le plus souvent elles restent unies au filament, coloré ou non dans son ensemble.

Il arrive aussi qu'une de ces cellules se divise par des cloisons en un corps ovoïde ou piriforme, en donnant un petit groupe cellulaire de 2, 3 ou 4 cellules réunies (Pl. I, fig. 5) : ces petits corps peuvent n'avoir leurs éléments qu'en simple contact ou, au contraire, former par le r soudure un ensemble solide, régulier, divisé dans les 3 directions de l'espace. C'est alors une spore en massif qui, pour l'espèce qui nous occupe, se rapproche, dans sa forme la plus différenciée, du genre *Macrosporium.* Mais si certaines cultures portent uniquement des spores ainsi caractérisées, d'autres nous montrent des corps analogues, mais irréguliers, macrosporioïdes et établissent, pour toute la série, des termes de passage. Ces *Macrosporium* peuvent germer latéralement et la cutinisation gagne alors souvent les rameaux. Enfin, si la germination a lieu au sommet de la spore, on voit se former à la suite les unes des autres, et

suivant une direction centrifuge, une file, une série régulière et distincte qui constitue la fructification bien connue du genre *Alternaria*, ou bien des formes « alternarioïdes » conduisant à l'*Alternaria* typique.

En réalité, dans cette espèce comme dans la suivante, le nom de *Macrosporium* est souvent inexact, et d'ordinaire ces *Macrosporium* sont des *Alternaria* à éléments dissociés.

γ. — *Forme Alternaria.* — Les spores d'*Alternaria* typique sont toujours de gros éléments piriformes, de dimensions assez variées. D'abord de teinte vert brun, elles arrivent au brun foncé. La pointe, toujours plus claire, reste ordinairement verdâtre, quelquefois même à peu près incolore (spores terminales.)

Le massif est pluricellulaire : aux deux extrémités une cellule non divisée longitudinalement : dans la région moyenne plusieurs cellules sur le même plan. Ces éléments sont assez fortement liés les uns aux autres, mais cependant plus ou moins arrondis, à angles mousses sur les points de contact. Malgré la cutinisation forte, les cellules sont assez distinctes par transparence.

L'insertion sur les filaments est d'ordinaire bien visible, mais l'attache est d'une grande fragilité. L'union des spores entre elles dans les files est également très faible. La pointe de chacune est en simple contact avec la base de la suivante et le moindre choc fait cesser l'adhérence, d'où confusion fréquente avec d'autres espèces à spores isolées. Les filaments sporifères souvent irréguliers portent la trace de l'insertion des spores tombées et ressemblent bien à ceux des *Macrosporium*.

Le dernier élément de la série porte généralement à son extrémité distale un léger renflement en bouton, verdâtre ou brun pâle, début de la formation de la spore suivante. Le développement de celle-ci est d'ailleurs très rapide, car entre ce petit bouton et la spore formée et cloisonnée, on ne trouve que de très rares intermédiaires ; la cutinisation marche aussi très vite, et la coloration de la dernière

spore est presque toujours aussi foncée ou à peu près, que celle des autres. Les cultures en cellules montrent bien ces résultats.

Le nombre des spores de la série est fort variable; quelquefois 2 ou 3, souvent 12 ou 14. Le bouton terminal indique la dernière.

La forme est toujours celle d'une poire, mais tantôt le col en est court et en contact immédiat avec la spore suivante (les éléments sont ainsi très rapprochés), tantôt ce col s'allonge davantage et les parties renflées sont plus séparées, la série restant toujours très régulière. Le milieu semble jouer un rôle dans cette dernière modification de forme; mais entre les extrêmes on trouve encore ici tous les passages.

Les dimensions de corps aussi polymorphes ne sauraient être données exactement, et c'est un des résultats des me-

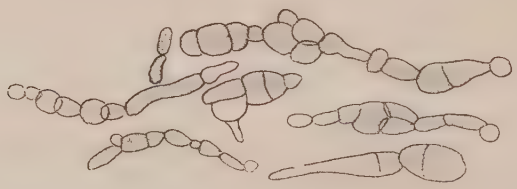

Fig. 16. — Culture sur fragment d'éponge imprégné d'acétate de sodium. Formes alternarioïdes.

sures prises, que l'impossibilité de baser des distinctions spécifiques sur ce caractère ; tout ce que je puis dire, c'est que la dimension de 20 μ sur 10 est une moyenne fréquente. Semées en milieu humide, ces spores ne tardent pas à émettre des tubes filamenteux. Toutes les cellules sont susceptibles de germer ainsi, mais d'ordinaire une à trois seulement poussent. Il est rare que ce soit la cellule terminale; celle-ci semble destinée à donner seulement une nouvelle spore semblable à la précédente. Cependant on voit parfois un filament mycélien terminer et prolonger une série (Pl. I, fig. 6). Dans les germinations, les premières cel-

lules formées sont, suivant le milieu, plus ou moins sphériques ou au contraire allongées.

δ. — *Formes de passage.* — Peut-on, d'après cela, considérer la forme *Alternaria* vraie comme réellement distincte? Il est évident que c'est un type bien spécialisé du mycélium durable. La forme générale allongée, piriforme, l'extrémité plus claire, le développement sur des filaments dressés et ordinairement aériens (bien qu'on en puisse rencontrer dans le liquide même), la disposition en file dont les termes sont assez semblables, l'allongement centrifuge et terminal de cette série, tandis que la cutinisation des autres groupes cellulaires a lieu çà et là et souvent d'avant en arrière, tout cela semble faire des *Alternaria* une forme bien nette. Néanmoins, si l'on examine les termes de passage, la ligne de démarcation est difficile à tracer (1): exceptionnellement des files d'*Alternaria* se terminent aux deux extrémités par un filament mycélien; dans la même préparation, des séries de cellules sont renflées en une sorte de chapelet, mais dont les grains, au lieu d'être bien séparés, sont soudés par quelques éléments cutinisés; un même filament à demi plongé dans un liquide y donnera des formes irrégulières macrosporioïdes avec tous les termes déjà indiqués: plus loin il émerge et se continue en une file d'*Alternaria* typique. En somme l'*Alternaria* est un cas particulier du mycélium durable, devenu fixe et se montrant avec un ensemble de caractères dans certaines conditions. Mais ce n'est qu'une forme fixée, gardant ses homologies avec le mycélium durable et une homologie plus

(1) Costantin, en étudiant l'*Alternaria tenuis*, a pu voir que dans certaines conditions les files de spores étaient remplacées par une seule spore, dans laquelle les cloisons étaient toutes parallèles; les spores terminales moins cloisonnées pouvaient être bi ou même unicellulaires (J. Costantin, *Sur les variations des Alternaria et des Cladosporium* (Rev. gén. de Bot., t. I).

Les spores en massif isolées, prennent souvent l'aspect des *Stemphylium* ou des *Mystrosporium*. Le *M. hispidum* représenté par Harz (*Einige neue Hyphomyceten*, p. 44, tab. IV, fig. 3) présente même des formes alternarioïdes qui le rapprochent beaucoup de l'espèce ici décrite.

lointaine avec les pycnides, ainsi qu'on le verra.

Il semble, d'après ce qui précède, que la formation des *Alternaria* typiques se fasse sur les filaments émergés surtout et que les parties immergées fournissent plutôt des formes « alternarioïdes » ou « macrosporioïdes ». Ainsi, dans

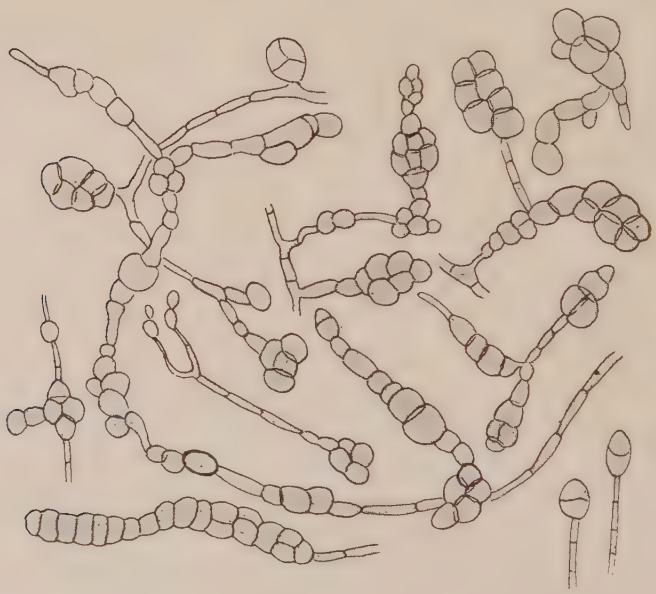

Fig. 17. — Formes macrosporioïdes et alternarioïdes sur divers milieux (Bois, pomme de terre, gomme, etc.).

une culture en cellule sur glycérophosphate disodique, ces dernières abondèrent dans la gouttelette pendante, mais la préparation étant restée assez longtemps dans la chambre humide, le champignon s'étendit, dépassa le couvre-objet et vint végéter au-dessus de lui, donnant alors des files parfaites d'*Alternaria*.

Toutes ces formes de passage se rencontrent sur les cultures anciennes sur gomme. La cutinisation y est forte, moins cependant que dans la dextrine où elle est extrême.

On peut trouver d'autres exemples de ces passages : dans la culture sur cocaïne, on a, avec le mycélium blanc, du

mycélium durable, mais surtout tous les passages entre le simple filament brun à cellules normales cutinisées, et les *Macrosporium* bien organisés, toujours très rares. La plupart des filaments ont une tendance à se renfler çà et là en spores en massif, mais les renflements portent rarement des divisions autres que la cloison transversale. Pour tout le reste (couleur, etc). ce sont des formes macrosporioïdes. (Pl. I, fig. 7.)

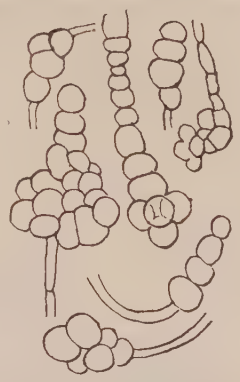

Fig. 18. — Culture dans une solution de créosote.

Dans la créosote on trouve parfois, à l'origine des filaments mycéliens, des amas de cellules arrondies qui rappelleraient les *Macrosporium* ou les *Fumago* s'ils étaient colorés : ils le sont en effet faiblement sur quelques points de la préparation : ordinairement ils restent blancs, spores en massif par la forme, non par la couleur (fig. 18).

Je citerai encore un terme de passage intéressant : la culture dans le bromure de sodium offre des amas irréguliers et le plus souvent sphériques formés de cellules rondes agglomérées : il ne semble pas que ces corps qui ont toute l'allure et la forme des pycnides soient creux. Ce sont de simples agglomérations de cellules cutinisées, comme les filaments en portent beaucoup par groupes ou par série de deux ou trois, et qui en somme se rapprochent du mycélium durable, dont elles ont tout à fait la couleur : mais les cellules ne sont pas agencées solidement entre elles comme celles d'un *Macrosporium* et sont en outre plus petites. On trouve du reste à côté, des formes macrosporioïdes avec tous les passages ; ces corps ne sont ni des pycnides (pas de cavité, pas de stylospores), ni des *Macrosporium* (cellules arrondies, peu cohérentes), ni des *Fumago* (forme ordinairement régulière, amas placé en continuité sur les filaments), mais paraissent tenir à la fois de ces trois ordres d'éléments. C'est un terme de passage à noter. (Pl. I, fig. 4.)

Au total les *Alternaria* tout à fait typiques avec leur contour piriforme, leur extrémité peu colorée et à peine en contact avec la spore suivante formée par voie centrifuge, sont plutôt rares dans cette espèce. Les formes alternarioïdes voisines abondent au contraire dans certaines cultures (glycérophosphates de sodium).

D'après tout ce qui précède, il est probable que la plupart des Hyphomycètes ayant comme organe reproducteur la spore en massif (*Papulaspora*, *Helicosporangium*, etc.) doivent passer très facilement des uns aux autres et que la distinction générique, en dehors des périthèces inconnus, est toute provisoire, conventionnelle et précaire. Les procédés de reproduction sont très semblables : ainsi d'après des recherches encore inédites de M. Em. Boulanger, on voit un *Papulaspora* donner, au bout de nombreuses générations, des spores en massif plus volumineuses que les autres, et bientôt après de vraies pycnides avec de grosses stylospores brunes. La formation de ces pycnides, au milieu des spores en massif est un point de contact très net avec l'espèce ici étudiée.

6. — CARACTÉRISTIQUE DES MILIEUX.

La variabilité de ces formes mycéliennes cutinisées ou non, la facilité de leurs transformations, les termes multiples qui les relient, expliquent qu'il n'y ait rien d'absolu dans la caractéristique de la plupart des cultures. S'il est vrai que dans tel ou tel milieu le mycélium reste stérile; s'il est vrai que dans d'autres, on trouve des *Alternaria* typiques, qui font totalement défaut ailleurs; s'il est vrai que les pycnides ou les formes diverses de mycélium durable puissent caractériser assez bien tel milieu de culture, il n'est pas moins vrai :

1° Que certains milieux (pomme de terre, par exemple) peuvent offrir en même temps ou successivement la plupart des formes indiquées;

2° Que les milieux sont plutôt caractérisés par la *prédominance* d'une forme que par sa présence exclusive;

3° Qu'il est très rare que la végétation ou la reproduction soient uniformes. Il y a toujours (sauf le cas de stérilité complète du mycélium) modification en plusieurs sens des cellules du champignon, avec ou sans termes de passage entre les formes développées.

Cette variété d'aspect s'explique par la nécessité de la lutte. Tous ces milieux (ou la plupart) sont en somme très défavorables aux champignons, qui doivent lutter pour la vie et qui prennent des formes défensives. Mais ces formes varient suivant le milieu. Ici c'est un simple épaississement de la membrane, une sorte de renforcement de la protection ordinaire. Ailleurs il y a modification dans la nature de cette membrane : c'est la cutinisation avec tous ses degrés et tous ses aspects. Ailleurs, enfin, les cellules modifient leur forme ou leurs rapports : elles deviennent plus ou moins sphériques, s'unissent en massifs volumineux, ou au contraire s'isolent, s'émiettent de plus en plus et restent dans le liquide à l'état d'une sorte de levure enkystée, ou de sphères résistantes à double contour avec ou sans cutinisation, ou même à l'état de petits groupes isolés, d'un *Fumago*. La forme prise est naturellement celle qui résiste le mieux à l'action nuisible du liquide choisi.

7. — PYCNIDES ET MYCÉLIUM.

Il faut maintenant établir l'homologie très réelle entre les pycnides et les diverses formes du mycélium durable. Cette homologie, surtout pour les mycéliums immergés où les passages sont extrêmement nombreux, est très nette et repose sur les faits suivants :

1° Il y a complète identité de situation sur le trajet des filaments mycéliens. Un groupe de cellules, on l'a vu, se différencie pour former une spore en massif, ou une pycnide, tantôt à l'extrémité, tantôt latéralement, tantôt et plus sou-

vent en un point quelconque de la longueur du filament;

2° Au début tout au moins de la formation, et surtout pour les pycnides immergées, le mode de développement est le même; cellule unique donnant par cloisonnement un massif cellulaire. Il est vrai que chez la pycnide la division continue, les membranes cellulaires restent plus fines, le tissu de la paroi plus nettement organisé; mais c'est là le développement ultérieur;

3° La modification de la membrane cellulaire est la même : la cutinisation se produit dans les deux cas; elle est seulement d'une extrême rapidité dans les cellules des spores en massif, ordinairement très lente chez les pycnides qui ne brunissent qu'au bout de quelque temps. La production de mucilage rapproche encore ces deux modes de fructification;

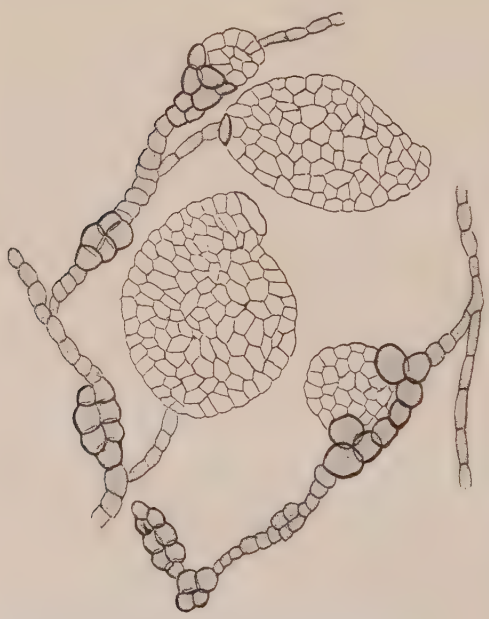

Fig. 19. — Culture ancienne sur pomme de terre. Passage des pycnides au mycélium durable.

4° Surtout on peut constater entre une spore en massif et une pycnide différenciée, absolument tous les passages. (Pl. I, fig. 2.) Dans une file d'*Alternaria*, par exemple, on voit une pycnide remplaçant l'une des spores en massif; telle pycnide allongée présente à ses deux extrémités où à l'une d'elles quelques cellules fortement cutinisées : c'est une spore de *Macrosporium* dont la partie centrale s'est renflée en pycnide; la cutinisation peut s'affaiblir chez quelques spores,

augmenter chez quelques pycnides, et, dans certaines préparations, la distinction devient difficile (fig. 19). Plus tard, si le développement de la pycnide s'achève (ce qui n'est pas toujours le cas, semble-t-il), la paroi multiplie ses cellules et en diminue les dimensions, les stérigmates, les stylospores se forment, l'ouverture de la pycnide s'effectue et les deux organes diffèrent de plus en plus.

On peut, en somme, passer par des transitions insensibles de la cellule mycélienne la plus simple à la pycnide la plus compliquée (1).

VII. — RÉSUMÉ.

L'espèce décrite sous le nom d'*Alternaria polymorpha*, est fréquente dans les solutions chimiques (p. 48).

Elle résiste très bien à l'action de la plupart de ces milieux, moins bien cependant aux milieux acides (p. 49).

Elle se présente dans les cultures avec une grande variété d'aspect et de structure (p. 50).

Sur le milieu-type, elle donne d'abord une végétation en levure rose, qui noircit bientôt en prenant l'aspect d'un *Fumago*, en même temps que se forment des pycnides (p. 51).

Sur les mêmes cultures anciennes, on trouve réunis sous des aspects très divers : levures roses, levures cutinisées, pycnides, stylospores incolores et cutinisées, mycélium durable, formes macrosporioïdes et alternarioïdes, *Alternaria*, formes fumagoïdes, avec tous les termes de passage (p. 60, 64).

Les cultures en cellule peuvent, si elles sont prolongées, donner ces divers types (p. 60).

Les filaments provenant des stylospores ou des levures s'anastomosent très facilement (p. 55).

(1) M. Cornu a d'ailleurs montré depuis longtemps déjà l'homologie qui existe entre les diverses spores, conidies, stylospores et spermaties. (M. Cornu, *Reproduction des Ascomycètes : Stylospores et Spermaties* (Ann. des Sc. nat., 6e série, t. 3, p. 53).

Les pycnides se forment soit aux dépens de la cellule initiale semée, soit aux dépens d'une cellule quelconque d'un filament.

Dans les liquides, les pycnides se développent sans l'intervention d'autres filaments que le filament primitif : une cellule se divise un grand nombre de fois et donne un massif cellulaire qui se creuse et émet rapidement des stylospores (p. 55).

Dans la gélatine ou dans les parties aériennes des cultures précédentes, les pycnides se forment de la même façon, mais émettent aussi, dès le début, des filaments qui s'anastomosent bientôt avec les filaments voisins et entourent la pycnide d'un réseau toujours très lâche et parfois à peine indiqué (p. 55).

Les formes variées de mycélium durable n'apparaissent dans les cellules que beaucoup plus tard (p. 60).

Des différences se montrent dans le mode de germination et le premier développement quand on cultive en cellule sur des milieux variés (gomme, dextrine, acétate de sodium, etc.) (p. 61).

La végétation en levure ne se fait que sur quelques rares milieux. Mais la vitalité se conserve assez souvent même en l'absence de tout développement (p. 65).

A l'état d'activité, les levures sont très variées de forme et de dimensions (p. 53).

Les pycnides sont un mode très commun de reproduction, quelquefois le seul. Mais elles diffèrent beaucoup dans les divers milieux (p. 66) :

a. Par les dimensions (qui varient dans les proportions de 1 à 10 et plus);

b. Par la forme (arrondie, oblongue ou irrégulière);

c. Par la déhiscence (orifice avec ou sans goulot, simple ou double; pycnides indéhiscentes).

d. Par la couleur (blanche, jaune, brunâtre ou noirâtre);

e. Par le nombre (indépendant des caractères précédents);

f. Par la structure (dimensions des cellules de la paroi);

g. Par la netteté du contour (qui parfois s'estompe beaucoup);

h. Par l'origine (cellule initiale ou cellule d'un filament);

i. Par le développement (massif cellulaire simple ou donnant naissance à des filaments);

j. Par le groupement (des pycnides se fusionnant quelquefois en masses assez mal limitées) ;

k. Par la fertilité (certaines formes de pycnides paraissent rester stériles).

L'appareil mycélien présente aussi des variations nombreuses (p. 70).

La cutinisation peut manquer complètement (phosphate acide de soude) ou devenir totale (dextrine) ; parfois alternance de parties incolores et cutinisées (p. 70).

Le mucilage abonde dans cette espèce (p. 71).

La sortie de la cellule hors de la cuticule s'observe aussi (p. 71).

La forme des articles mycéliens varie suivant le milieu ou dans le même milieu. Les filaments toruleux sont fréquents (p. 72).

La fragmentation du mycélium, cutinisé ou non, est fréquente aussi : des oïdies (créosote, alun, arséniate de sodium, etc.), et des formes fumagoïdes et enkystées (acides citrique, gallique, etc.), se produisent aussi dans divers milieux (pp. 73, 75, 76, etc.).

Le mycélium durable est spécialement intéressant par les termes de passage qu'il présente : articles enkystés, filaments entièrement cutinisés, renflements isolés ou successifs, spores en massif se dégageant peu à peu, formes macrosporioïdes, enfin *Alternaria* caractérisés (p. 78).

Les types les plus nettement différenciés se trouvent dans les végétations émergées (p. 84).

Des termes de passage se voient dans des milieux très divers (acétate de sodium, cocaïne, créosote, bromure de sodium, etc., etc.) (p. 83).

La plupart des Hyphomycètes à spores en massif doivent passer facilement de l'un à l'autre (p. 86).

On trouve tous les passages :

a. Entre l'article mycélien et la chlamydospore ;

b. Entre l'article mycélien et la conidie ;

c. Entre l'article mycélien et la spore en massif ;

d. Entre la spore en massif isolée (*Macrosporium*) et la file d'*Alternaria* ;

e. Entre la spore en massif et les pycnides.

Les milieux sont plutôt caractérisés en général par la prédominance d'une forme que par une forme tout à fait exclusive (p. 86).

Les pycnides peuvent être considérées, comme les homologues du mycélium durable et des spores en massif : la situation identique, le mode de développement, la modification de la membrane cellulaire, les formes de passages nombreuses, etc., le montrent très nettement (p. 87).

On peut passer par transition insensible, et en considérant des milieux divers, de la cellule mycélienne la plus simple à la pycnide la plus compliquée (p. 89).

ALTERNARIA VARIANS

I. — ORIGINE DES CULTURES.

La deuxième espèce d'*Alternaria* que je me propose d'étudier, est certainement bien distincte de la première. Sans doute la variabilité de leur mycélium durable et les formes différenciées de leurs spores en massif les rapprochent ; mais, soumise à des conditions identiques, jamais la seconde ne donne ni forme-levure, ni pycnides, ni par conséquent de stylospores. Il s'ensuit déjà que, semée sur le milieu type, elle s'y comportera tout différemment, au moins au début, puisque les levures et les pycnides sont le premier stade de développement de l'*Alternaria polymorpha*.

Cette espèce a été obtenue en semant la végétation d'une solution d'azotite de potassium (1) provenant d'un laboratoire de l'École supérieure de pharmacie de Paris.

Déjà dans le flacon d'origine, on reconnaît bien les filaments d'un champignon du groupe des Dématiées, les uns incolores, plus ou moins nettement cloisonnés, d'autres ayant à l'extrémité ou sur leur trajet, une ou plusieurs cellules colorées et renflées, d'autres enfin formés d'articles jaunâtres, réguliers ou non, en série continue ou interrompue. C'est là, certainement, le champignon obtenu par la culture.

(1) Cette même solution a d'ailleurs fourni d'autres espèces : le *Penicillium glaucum*, une levure rose, une levure jaunâtre, une espèce de *Bothriotrichum* (?) disparu avant détermination, etc. Dans le liquide, la végétation formait des flocons filamenteux, blanchâtres, ochracés par places.

II. — RÉSISTANCE AUX MILIEUX.

L'espèce se développe bien dans la plupart des milieux, d'une façon moins générale toutefois que la première. C'est ainsi que dans une dizaine de liquides, elle n'a donné aucune végétation (1), et que dans une vingtaine (2), le développement a été faible; 15 à 18 (3) ont donné une moisissure vigoureuse.

Certains milieux ont permis d'abord le développement du champignon ; mais celui-ci est mort au bout de peu de temps (4).

Quelques liquides n'ont donné qu'un mycélium absolument stérile (5), c'est-à-dire dépourvu même des spores en massif plus ou moins différenciées qui constituent les seules formes reproductrices de ce champignon.

Le groupe des eaux distillées s'est montré assez homogène; l'espèce a même végété dans l'eau de cannelle (faiblement, il est vrai, et pas longtemps, car les semis de contrôle n'ont rien donné). Les autres ont accusé une prédominance du mycélium incolore sur les filaments cutinisés; les spores en massif existent partout, mais peu nombreuses, rarement en série et surtout sous forme de *Macrosporium*.

Parfois le mycélium est presque stérile (eau distillée de mélisse).

(1) Sucre interverti, acide glycérophosphorique, acide sulfurique, soude, biphosphate de calcium, acide borique, iodure de sodium, arséniate de sodium, alun.

(2) Bois, gélose, gélatine, eau de cannelle, eau de menthe, eau distillée, acide citrique, acide gallique, lactophosphate de calcium, phosphate acide de sodium, bromure de sodium, carbonate de sodium, chlorure d'ammonium, liqueur de Fowler, chlorure de baryum, créosote, gaïacol, sulfate de quinine, chlorhydrate de cocaïne, etc.

(3) Moût gélatiné, mannite, bouillon, liquide de Raulin, eau glycérinée, eaux d'oranger, de roses, de tilleul, de mélisse ; glycérophosphates et acétate de sodium, sulfate de magnésium, gomme, dextrine, pomme de terre.

(4) Gélose, gélatine, eau de cannelle, acide citrique, lactophosphate de calcium, chlorure d'ammonium, liqueur de Fowler, chlorure de baryum.

(5) Moût gélatiné, mannite, acides citrique et gallique, soude, chlorure et acétate de sodium, ferrocyanure de potassium, créosote, cocaïne.

Les acides ont été très défavorables : le champignon n'y a rien donné, ou a faiblement végété. Sous ce rapport, cette espèce se rapproche de la première et de la troisième.

III. — ASPECT GÉNÉRAL DES CULTURES.

L'aspect général des cultures un peu anciennes varie beaucoup. On a vu que chez certaines le semis ne se développe pas et que chez d'autres l'accroissement est insignifiant. Lorsque le milieu est au contraire très favorable, le champignon forme à la surface un voile qui dépasse parfois deux centimètres d'épaisseur, et dont la partie inférieure laisse flotter souvent des flocons dans le liquide. Le long des parois, la végétation émergée peut s'élèver assez haut, tantôt en filaments bien nets, tantôt sous forme d'une poussière grisâtre. Dans la solution d'acide tartrique cette végétation émergée existe seule.

La couleur de la moisissure peut être assez foncée : généralement grise ou brune, souvent blanchâtre et même blanche dans les parties stériles. Certains milieux ne fournissent que des flocons blancs parfois très petits (1); chez d'autres, ces flocons ont une teinte grise (2), gris foncé (3), ou noirâtre (4), ou forment une grosse membrane noire (5), recouverte ou non d'un tomentum blanc. On voit que la cutinisation, plus ou moins grande, joue ici un rôle évident et que l'on a tous les passages du blanc pur au noir.

La gélatine et le moût gélatiné sont liquéfiés par le développement de ce champignon.

(1) Lactophosphate de calcium, chlorure d'ammonium, chlorure de sodium, chlorure de baryum, soude à 0,25 et à 0,50, urée, liqueur de Fowler.
(2) Bromure de sodium, eaux distillées diverses.
(3) Acétate de sodium.
(4) Bois, glycérophosphate, bouillon.
(5) Gomme, moût, eau glycérinée, dextrine, glucose, mannite.

IV. — CULTURE SUR LE MILIEU-TYPE.

Semée sur pomme de terre dans les conditions normales, cette espèce se développe rapidement en une moisissure gris brunâtre ou verdâtre, entourée d'une atmosphère de filaments blancs, aranéeux, légers. Ce flocon s'agrandit et envahit bientôt toute la pomme de terre. Quelle que soit l'origine, l'aspect des semis de contrôle a toujours été le même. Le substratum se recouvre d'une laine courte, en petits flocons serrés, tantôt sur toute la surface, tantôt par places. La coloration de cette laine reste très rarement blanche ; elle varie du gris-noirâtre au gris-verdâtre.

Lorsque la pomme de terre repose sur un tampon de coton, celui-ci est rapidement envahi et devient vert noirâtre. Dans les vieilles cultures, le coton supérieur lui-même renferme aussi des filaments.

Enfin le liquide inférieur contient une végétation superficielle abondante, souvent suffisante pour qu'on puisse renverser le tube. Cette épaisse membrane est quelquefois blanchâtre, le plus ordinairement colorée et marquée sur le bord d'un cercle plus foncé, noirâtre.

Les parties tomenteuses, grises ou blanches, sont formées d'un mycélium stérile. Les parties verdâtres ou gris verdâtre montrent un mycélium portant des *Macrosporium* ou des formes macrosporioïdes. Les parties noires sont des amas de *Macrosporium* brun noir, détachés ordinairement des filaments et qui germent aussitôt sur le milieu, augmentant ainsi la végétation.

Celle-ci est, en somme, assez homogène. Beaucoup de filaments sont très volumineux et contiennent de grosses gouttes d'huile (fig. 23, p. 101).

V. — GERMINATION ET PREMIER DÉVELOPPEMENT SUR EAU DE POMME DE TERRE.

Dans les cultures en cellules, le mycélium blanc ou très légèrement cutinisé naît d'une spore en massif, rarement de la pointe, le plus souvent des cellules latérales; 1, 2, 3 filaments partent ainsi sous forme de tubes cylindriques

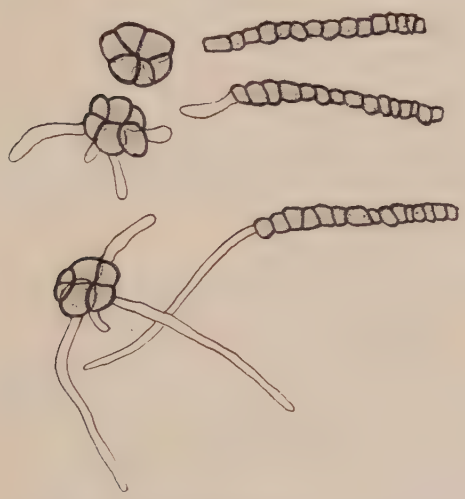

Fig. 20. — Première germination d'une spore en massif et d'un fragment de mycélium durable sur eau de pomme de terre.

Fig. 21. — Anastomoses dès le début de la germination. — Eau de pomme de terre.

(fig. 20) bientôt ramifiés et s'anastomosent vite (fig. 21, 22) en un réseau à larges mailles. Sur les branches mycéliennes naissent des spores en massif qui se prolongent en files d'*Alternaria* généralement bien régulières et très caractérisées (fig. 22). La couleur en est grise ou gris brun, ou un peu verdâtre, tandis que la spore initiale est très foncée, brun rouge sombre, souvent plus petite que les nouvelles formées et comme réduite, tout en conservant sa forme (pl. II, fig. 11). Par exception, les spores nouvelles sont quelquefois irrégulières et de forme anormale; en tout cas, toujours nettement articulées sur le mycélium.

Celui-ci très développé, rameux, anastomosé souvent, se ramifie sur certains points en formant une sorte de réseau où les rameaux sont plus épais et fréquemment anastomosés. Ce phénomène se retrouve dans la germination sur plusieurs autres milieux (glycérophosphates, etc.) (Pl. II, fig. 12). Ces filaments entrecroisés ont des origines diverses ; ils sont plus tortueux, plus irréguliers, plus

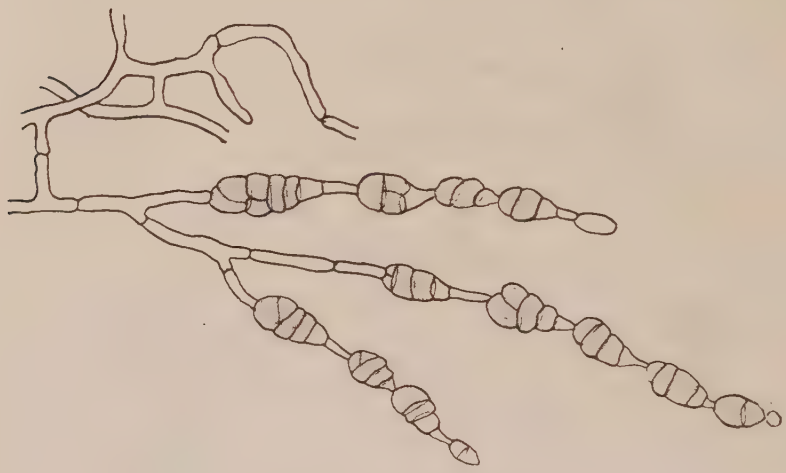

Fig. 22. — Culture en cellule sur eau de pomme de terre, 3e jour. — Formation des files d'*Alternaria*.

gris et un peu plus cutinisés que ceux d'où ils proviennent et que ceux qu'ils donnent eux-mêmes.

J'ai fait aussi d'autres cultures en cellule, pour observer la germination dans quelques milieux intéressants (acide gallique, glycérophosphate monosodique, carbonate de calcium, mannite, eau distillée de menthe, etc., etc.). Les résultats en seront mieux placés après l'étude de la végétation spéciale dans ces solutions. J'indique seulement ici que des essais de ce genre pourraient peut-être permettre d'obtenir des périthèces.

En effet, les cultures en cellule, outre qu'elles ont offert des éclaircissements très nets sur certains points de structure et de développement, ont aussi présenté (au moins

quelques-unes d'entre elles : mannite, glycérophosphate, etc., etc.), un mode de végétation intéressant, bien qu'il n'ait pu être suivi jusqu'au bout.

Sur certains points du mycélium rameux sorti de la spore en massif, les branches se tordent en spirales irrégulières, en une sorte de tire-bouchon dont l'aspect tranche nettement sur le reste du mycélium. Or, Zopf, dans sa monographie des *Chætomium* (1), indique des formations absolument identiques comme étant le début des périthèces. Il se pourrait donc que notre espèce eût une tendance, dans certains milieux, à former soit des périthèces, soit peut-être des pycnides, dont le mode de production serait tout différent de celui des pycnides de la première espèce; mais souvent pycnides et périthèces se développent dans la même espèce d'une façon identique (2).

VI. — MODIFICATIONS MORPHOLOGIQUES DE L'ESPÈCE.

Ainsi que je l'ai dit, cette espèce, malgré les variétés des conditions auxquelles elle a été soumise, n'a donné aucune autre forme de reproduction que la spore en massif différenciée en *Macrosporium* et *Alternaria*, ou les diverses formes de passage entre ces spores et le mycélium durable.

En somme, ici le mycélium est le principal objet d'études; mais ses variations sont assez grandes et les types sur divers milieux assez nets, pour que l'examen en doive être fait avec soin. Fragmentation du mycélium, formation d'oïdies de types fumagoïdes, variation dans la cutinisation, dans

(1) Zopf, *Zur Entwickelungsgeschichte der Ascomyceten. Chætomium* (Nov. act. der K. L. C. deutsch. Akad. der Naturf. Halle, 1881, XLII, n° 5).

(2) Pour profiter de cette tendance à la formation de corps reproducteurs, j'ai pensé à employer des milieux solides, mais comme le liquide paraissait avoir ici une influence, j'ai imprégné de ces liquides (solution de mannite, glycérophosphate monosodique, eau distillée de menthe, etc.) divers milieux solides, les uns très nutritifs (pomme de terre), les autres peu (bois blanc), les autres, enfin, pas du tout (éponge). Les périthèces ne s'étaient pas développés au bout de plusieurs mois.

la forme des articles et dans leur contenu, modes spéciaux de génération de la spore en massif, phénomène particulier de sortie de la cellule hors de son enveloppe extérieure cutinisée ou non, etc., etc. ; ce sont là autant de points qui devront être mis en relief et dont quelques-uns se montrent ici avec plus de netteté que pour la première espèce. Ils justifient, semble-t-il, la dénomination d'*Alternaria varians*, proposée pour cette plante, qui ne paraît se rapporter à aucune de celles dont j'ai pu voir la description.

Le mycélium subit donc des modifications profondes ; mais, dans leurs grandes lignes, elles peuvent être comparées à celles de la première espèce. Il est donc inutile d'y revenir longuement. Le rôle de l'*immersion* par exemple, est ici très évident : dans la même culture (glycérophosphate monosodique) le fond contient des filaments stériles, la végétation émergée porte nombre de spores en massif avec passages très variés et filaments moniliformes divers. La *gélification* de la membrane se présente avec ses caractères ordinaires. Elle est fréquente, mais n'a rien de spécial. La sortie des éléments cellulaires, hors de la cuticule, se montre aussi (pl. II, fig. 3), moins fréquente cependant que chez l'autre *Alternaria* (dextrine, glycérophosphate monosodique, etc.). Réduite au minimum dans quelques milieux (acétate de sodium, iodure de potassium, créosote, gaïacol, etc.), la *cutinisation* se localise parfois sur les spores ou dans leur voisinage. D'autres fois, au contraire, elle envahit presque totalement la végétation (dextrine, surtout à 20 p. 100. On a vu que la dextrine augmente souvent la cutinisation). Dans la règle, les filaments bruns, plus ou moins foncés, sont mêlés aux parties blanches du mycélium.

a. — **Mycélium toruleux. — Renflements.** — Le mycélium présente souvent des renflements, tantôt localisés, sur quelques points çà et là (pomme de terre, etc.) (fig. 23), ou sur certains filaments mêlés aux formes cylindriques (mannite

5 p. 100) (1) (pl. II, fig. 7), tantôt généralisés, la végétation devenant tout à fait toruleuse (acétate de sodium). Ces renflements mycéliens sont parfois vides, parfois remplis d'huile.

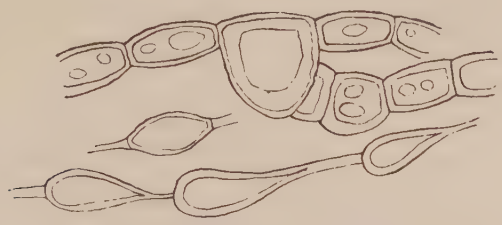

Fig. 23. — Renflements cellulaires divers. Culture sur pomme de terre.

Le type du mycélium toruleux peut être fourni par l'*acétate de sodium* (pl. II, fig. 2). Ici tous les articles ou à peu près deviennent sphériques ou ovoïdes, de dimensions assez grandes. Le contenu est de l'huile qui gonfle peu à peu la cellule et apparaît dans l'intérieur sous forme de grosses gouttes réfringentes et homogènes. La sortie de ces gouttelettes se fait de la façon spéciale qui a été décrite pour la sortie des cellules elles-mêmes hors de l'enveloppe, c'est-à-dire que celle-ci se rompt largement, en laissant échapper un gros globule très riche en huile. Dans le liquide on rencontre des gouttes d'huile de toutes dimensions, moins cependant qu'il ne semblerait *à priori*. Quelques-uns de ces corps ainsi sortis des cellules ont encore des granulations protoplasmiques ; mais l'absence de membrane, la grande réfringence, la variabilité des dimensions, l'homogénéité générale, les réactions indiquent de l'huile et non du protoplasma. Certains filaments sont légèrement cutinisés.

Cette végétation toruleuse se rencontre aussi bien dans les solutions faibles (1 p. 100) que dans les solutions fortes (10 p. 100) ; mais les parties colorées du mycélium restent régulièrement cylindriques dans les solutions faibles et tendent à devenir toruleuses aussi à mesure

(1) Dans les solutions faibles ce caractère de la mannite disparaît à peu près complètement, surtout sur les filaments cutinisés.

que le titre de la solution augmente. Partout le mycélium est complètement stérile. Les cellules cutinisées laissent échapper comme les autres, suivant le procédé indiqué, des gouttelettes grasses souvent accompagnées d'une sortie partielle du protoplasma.

D'ailleurs, si l'on fait germer la spore en massif en cellule dans une goutte de ce milieu, le caractère de la torulation apparaît dès le début (pl. II, fig. 2); à ce moment il n'est pas dû à l'huile, car les cellules sont pleines de granulations protoplasmiques. Ces cellules sont courtes ou arrondies, fortement granuleuses, bien séparées, les premières quelquefois un peu cutinisées. Plus loin le filament devient cylindrique et donne des spores en massif, mais il faut remarquer qu'alors il sort de la gouttelette de culture.

Le caractère de stérilité de ce milieu se retrouve sur la pomme de terre imprégnée d'acétate de sodium, mais non sur le bois ni sur l'éponge, qui, dans les mêmes conditions, sont très riches en *Macrosporium* et formes intermédiaires au milieu des filaments caractéristiques. Les sphères qui sortent des spores en massif germent quelquefois sur place avant même d'être sorties complètement.

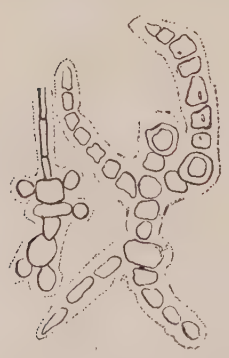

Fig. 24. — Culture dans la solution de sulfate de quinine.

La culture dans la solution de *sulfate de quinine* est intéressante aussi à certains égards ; on y trouve d'assez nombreux filaments brun clair avec quelques spores en massif, rares, allongées et pâles ; mais l'ensemble de la végétation est formée de filaments blancs, à articles bien séparés, à paroi externe gélifiée, à cellules ordinairement arrondies (fig. 24) : cette culture pourrait aussi être rapprochée du mycélium dissocié. Sur les cellules, plus ou moins renflées et qui s'effilent à mesure qu'elles s'éloignent du centre, se montrent de nombreux petits bourgeons ar-

rondis, point de départ de ramifications, ou pouvant probablement se détacher de la cellule productrice par gélification; ces bourgeons donnent une végétation nouvelle. Des gouttelettes d'huile se montrent dans les cellules, plus ou moins volumineuses suivant le diamètre de la cellule elle-même. La continuité de ce mycélium avec les filaments bruns n'est que probable (1).

Sur les *milieux nutritifs* comme la gélose, la gélatine, etc., on a vu la facilité avec laquelle se forment les renflements mycéliens qui parfois remplissent la préparation et montrent toujours un double contour.

Sur la gélatine, en particulier, le phénomène atteint même les *Macrosporium*. Ceux-ci tendent à se prolonger en *Alternaria*, mais les spores typiques se simplifient beaucoup et se réduisent à quelques rares cellules souvent même à une seule. Parfois aussi le bourgeon grossit beaucoup sans se colorer et prend absolument l'aspect d'un renflement mycélien dont la cavité est d'abord en communication avec celle de la dernière cellule de la spore en massif, puis finit par s'en séparer. La spore brune se termine alors, soit directement, soit par l'intermédiaire d'un col plus ou moins long (pl. II, fig. 1), en une sorte de sphère à double contour net et réfringent. On trouve absolument tous les passages à cet égard : le renflement peut se diviser en deux, se colorer, passer enfin à la forme d'*Alternaria* qui reste la règle. Souvent la spore productrice elle-même est plus simple et contient moins de cellules qu'à l'ordinaire. Enfin, certaines de ces spores prolongent leur pointe en un mycélium toruleux ou articulé, qui constitue encore une forme de passage entre la spore en massif et le mycélium ordinaire.

Le mycélium, a-t-il été dit, reste blanc dans quelques milieux. L'*eau distillée de cannelle*, liquide d'ordinaire défavorable, a donné ici un flocon blanchâtre aplati et quelques autres plus petits. Au microscope, on voit des filaments mycé-

(1) Mais bien entendu le semis de contrôle a donné l'espèce pure.

liens blancs, quelquefois très gros, et dans ce cas chaque article à double contour bien marqué, brillant. Aux extrémités il peut y avoir une légère cutinisation : les filaments portent de grands *Alternaria* sans caractères spéciaux, de la forme longue et peu ou même pas colorés. Le fait le plus intéressant est la ramification de ce mycélium qui débute par la production latérale d'une petite sphère blanche tout à fait sporiforme (fig. 25). Mais cette pseudo-

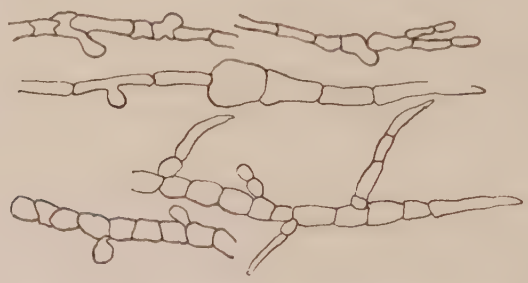

Fig. 25. — Culture dans l'eau distillée de cannelle.

spore s'allonge un peu d'ordinaire en donnant une deuxième cellule, puis un petit filament. Il semble, sans que je puisse l'affirmer, que cette petite sphère peut se détacher, car j'en ai vu, quoique rarement, quelques-unes dans le liquide.

Le même fait se retrouve dans l'eau distillée de menthe.

On peut être plus affirmatif pour l'eau distillée de tilleul, qui fait le passage à la forme de mycélium dissocié.

b. — **Mycélium dissocié**. — **Oïdies**. — Les articles du mycélium ont quelquefois une tendance à se séparer et à vivre d'une vie indépendante, soit isolément, soit par petits groupes. Ce sont là des formes qu'il convient de rapprocher des oïdies (culture sur *pomme de terre*, *acide tartrique*, etc.) (fig. 26 et 27).

Dans l'*eau distillée de tilleul* le mycélium est incolore comme dans la plupart des eaux distillées ; mais au lieu de rester cylindrique et régulier, il est toruleux par places ; en outre, les articles ainsi renflés sont fort peu adhérents entre eux

et se séparent facilement : ils contiennent quelques granulations noirâtres et quelquefois des gouttelettes réfringentes,

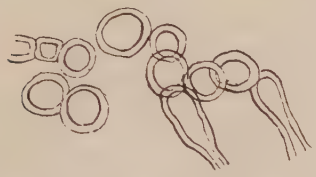

Fig. 26. — Culture sur pomme de terre.

Fig. 27. — Culture dans la solution d'acide tartrique.

mais sont susceptibles de pousser. C'est un mode de propagation de l'espèce dans ce milieu où les spores en massif sont rares (fig. 28).

Dans certaines cultures (*bouillon* culture ancienne), les filaments blancs deviennent plus ou moins toruleux et finissent par se segmenter en oïdies qui germent sur place en longs filaments. Les spores en massif elles-mêmes fragmentent en oïdies leur filament germinatif.

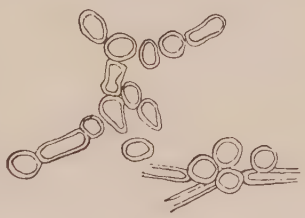

Fig. 28. — Culture dans l'eau distillée de tilleul.

Les articles en voie de séparation forment parfois d'assez longues chaînes dont les éléments ne sont unis que par la membrane moyenne gélifiée. Jamais ces oïdies n'offrent de coloration, sur ces milieux du moins.

La végétation dans le *carbonate de sodium* est aussi très spéciale. Dans ce milieu, il se fait un dépôt blanchâtre grumeleux, très divisé, qui donne dans l'acide lactique une vive effervescence. Mycélium blanc assez abondant, articulé ; branches quelquefois cutinisées à l'extrémité et portant des spores en massif peu colorées et allongées, ordinairement assez simples. Mais la grande masse de la végétation est constituée par des cellules arrondies, en général volumineuses, de dimensions pourtant variables. Ces cellules sont isolées, ou groupées par 2 à 3, provenant évidemment

les unes des autres. Plus rarement union en un filament. Dans la règle, sorte de végétation en levure, chaque cellule se séparant de la cellule-mère dès qu'elle est développée. Ce n'est pas un étranglement, mais un bourgeonnement (fig. 29).

Fig. 29. — Culture dans le carbonate de sodium.

La germination en cellule de la spore en massif sur ce milieu est très lente et difficile, mais intéressante (pl. II, fig. 8). Il se forme quelques filaments courts, blancs et très fortement moniliformes. Au moment de la germination, la spore en massif se gonfle beaucoup et éclate irrégulièrement. C'est un procédé analogue à celui de l'acide gallique (pl. II, fig. 13); mais ici le milieu permet un peu plus de développement et le contenu cellulaire ne se colore pas.

c. — **Formes fumagoïdes et enkystées.** — Si la dissociation du mycélium porte sur des cellules cutinisées, fortement colorées, ou si la division cellulaire aboutit à la formation de petits groupes de couleur foncée, on arrive aux formes fumagoïdes, plus rares il est vrai dans cette espèce que dans d'autres, mais dont il est facile cependant de donner des exemples.

L'*eau glycérinée* contient peu ou pas de spores en massif, mais une masse de filaments enchevêtrés toruleux ou non, les uns colorés, les autres blancs avec souvent des cellules cutinisées intercalaires. Sur quelques points les cellules se multiplient : un massif irrégulier, quelquefois très petit, d'autrefois volumineux, se montre, formé de cellules arrondies, blanc grisâtre ou brunes avec tous les passages. La végétation prend alors un aspect fumagoïde (pl. II, fig. 4).

Dans la solution d'*acide gallique* à 1 p. 100, l'*Alternaria varians* prend des caractères tout spéciaux (1). La spore en

(1) L'aspect particulier de cette espèce dans les solutions d'acide gallique est spécial aux végétations immergées. Les corps solides imprégnés de la

massif peut pousser quelquefois en filaments : c'est très rare ; d'ordinaire elle donne des cellules qui, à peine formées, se divisent, le plus souvent en deux. En même temps, la paroi des cellules s'épaissit beaucoup sans se cutiniser et, comme l'acide gallique a coloré fortement le contenu protoplasmique des cellules, celles-ci ont pris une teinte brune, un peu verdâtre ou noirâtre, et sont entourées d'un cercle peu ou pas coloré (pl. II, fig. 13). L'ensemble a la forme générale d'un *Fumago* très particulier. Quelquefois les cellules ont germé avec peine en filaments courts ; le plus souvent elles sont restées en groupes de dimensions variées. La forme est toujours plus ou moins arrondie ou ovoïde, surtout sur le bord des amas. Les cellules se séparent et donnent ainsi à cette culture ses caractères distinctifs, savoir :

Fragmentation du mycélium au fur et à mesure de sa formation.

Epaississement de la membrane.

Absence de cutinisation.

Stérilité du mycélium.

Grande différence de dimensions entre les cellules fumagoïdes.

Coloration noirâtre, brunâtre ou verdâtre, claire ou foncée du contenu cellulaire.

Aspect général de *Fumago*.

Dans les solutions à 0,50 p. 100, les caractères restent les mêmes, mais avec une tendance plus grande au filament.

Il était intéressant de faire germer les spores en cellule dans une goutte de solution d'acide gallique. Comme il fallait s'y attendre, le développement en est pénible. Lentement, une ou plusieurs des cellules de la spore poussent un petit bourgeon qui se renfle aussitôt en sphère (pl. II, fig. 13 *a*, *b*, *c*); quelquefois même la base s'étire en une sorte de pédoncule transparent; souvent aussi l'exospore

solution à 1 p. 100 donnent la forme ordinaire, à filaments colorés cladosporioïdes, ou incolores, avec *Macrosporium* nombreux (bois) ou rares (pomme de terre).

éclate pour laisser sortir le contenu. Celui-ci ne s'allonge pas en filament, mais forme autour de la spore primitive de petites sphères incolores ou peu colorées, souvent assez nombreuses, qui se divisent en deux ou trois, rarement plus, puis demeurent stationnaires.

Plus tard, très lentement, ces sphères, dont la paroi est déjà épaissie et gélifiée, grossissent et forment les végétations fumagoïdes décrites ci-dessus. C'est, en somme, un procédé analogue à la sortie de la cellule hors de l'enveloppe, suivie d'une courte germination ; il y a, en effet, division du protoplasma en plusieurs sphères, fragmentation qui se voit d'ailleurs déjà par transparence à l'intérieur des spores à parois minces.

d. — **Spores en massif.** — Les spores en massif de cette espèce, obtenues sur pomme de terre, diffèrent de celles de l'*Alternaria polymorpha.* Variées de forme, comme elles il est vrai, elles sont néanmoins beaucoup plus régulières dans l'ensemble, plus différenciées, plus semblables à de vraies spores.

Les formes intermédiaires entre elles et le mycélium durable sont bien plus rares. On ne les rencontre que dans quelques milieux (bouillon, eau glycérinée, glycérophosphates mono et disodique), et encore ces passages sont-ils plutôt des anomalies peu fréquentes. La valeur morphologique de la spore est donc ici dégagée. J'ajoute que la forme *Macrosporium*, qui semble beaucoup plus fréquente que la forme *Alternaria* type, est en réalité bien plus rare. Mais les articles d'*Alternaria* sont très faiblement unis entre eux, et facilement séparés au moindre contact : on ne les voit bien que dans les cultures en cellules et le montage de la préparation suffit d'ordinaire à transformer l'aspect.

On remarquera que, comme chez les *Cladosporium*, la déhiscence de la série d'*Alternaria* se fait naturellement au niveau de la spore la plus mûre, c'est-à-dire de la première formée. Or c'est celle qui est en contact avec le rameau, le développement étant centrifuge. Aussi dans sa chûte, cette

spore entraîne-t-elle toutes celles de la série et l'on en trouve à tous les états dans le liquide de la préparation.

D'ailleurs, cette séparation des spores mûres doit se faire spontanément dans la culture. Dans ce cas, la spore séparée peut germer en filament, ou continuer à former une spore nouvelle, par une sorte de germination de la pointe, analogue à la germination latérale.

Très souvent les préparations ne contiennent que des spores isolées ou des séries réduites à deux spores dont l'une est trop jeune pour s'être séparée.

On voit que l'*articulation des spores* entre elles est ici plus nette que dans l'espèce précédente : en outre, les dimensions des spores différenciées sont en général plus petites ; les cellules forment un massif plus homogène ; elles ne sont jamais arrondies et simplement accolées, comme il arrivait si souvent, mais séparées par des cloisons planes ou peu convexes ; de plus, ces cloisons, tout en se cutinisant parfois très fortement, restent plus minces, plus fines et d'ordinaire moins colorées.

La *forme*, ai-je dit, est toujours régulière et symétrique, sauf exceptions rares. Normalement, les spores sont piriformes. Mais il est fréquent de les trouver à peu près sphériques, dans la même préparation, avec tous les termes de passage. Le *nombre* et la *disposition des cellules* qui les composent varient extrêmement : parfois deux éléments seulement, provenant d'une seule cellule ovoïde coupée par une cloison transversale ; d'autres fois trois, grâce à une deuxième cloison oblique allant de la première à la base de la spore (pl. II, fig. 9). Quand celle-ci est complètement développée, elle a au moins quatre cellules en file ou en tétrade, mais souvent beaucoup plus. Parfois ces cellules sont rangées en une série renflée dans la partie moyenne ; mais dans la règle, les éléments du centre sont coupés par une ou plusieurs cloisons obliques ou parallèles à l'axe.

On sait que certains milieux semblent diminuer beaucoup la *cutinisation*, ainsi la plupart des eaux distillées ; mais les

spores en massif et les filaments qui les portent directetement sont toujours plus cutinisés que le reste. Dans certains cas (eau distillée de cannelle), on voit même des spores semblables aux autres par la forme, la dimension, le nombre des cellules et qui sont restées tout à fait incolores : c'est l'exception même dans ces milieux (fig. 25, page 104).

L'extrémité du massif donne d'ordinaire une nouvelle spore d'*Alternaria*; mais il arrive aussi qu'elle se prolonge en mycélium ou s'atténue peu à peu en un très long bec, généralement peu coloré et souvent sinueux (pl. II, fig. 10). Le fait se produit surtout dans les milieux à cutinisation faible (bouillon, gélatine, etc.).

Les spores en massif bien différenciées sont portées sur des ramifications de mycélium soit à l'extrémité, soit latéralement : mais, même alors, elles semblent terminales et le rameau mycélien continue latéralement en sympode. Lorsqu'elles sont tombées (on a vu que dans ces conditions elles tiennent fort peu), elles laissent sur le mycélium une petite encoche, indice de leur insertion. L'axe ressemble plutôt à celui d'un *Macrosporium* qu'à ceux que l'on représente d'ordinaire pour les *Alternaria*. Le mycélium lui-même, surtout au voisinage des spores, est souvent cladosporioïde.

Le *nombre des spores* varie aussi beaucoup. Quelquefois les différences sont assez singulières : ainsi la gomme demi-épaisse a donné une grande quantité de *Macrosporium*, alors qu'il y en a très peu dans la gomme étendue et pas du tout dans la gomme épaisse ; par contre, le développement des filaments blancs est en raison de la concentration.

Les *dimensions* sont si variables qu'on n'en peut guère tirer de caractère. Toutefois, en ne comptant que les spores ayant pris leur taille définitive, on peut dire que les plus petites ont environ 10 μ sur 8 et les plus plus grandes 60 μ sur 15 à 20 (pl. II, fig. 3). Entre les extrêmes sont tous les termes, mais cependant les milieux contiennent rarement des spores très dissemblables et d'ordinaire il existe une certaine localisation des formes. On peut même admettre,

comme je l'ai dit, l'existence de deux types : l'un court et foncé, le plus fréquent (pl. II, fig. 9), l'autre long et pâle, caractérisant certaines cultures (acide borique, carbonate de sodium, liqueur de Fowler, etc.) (pl. II, fig. 10). Ce second type se distingue par :

1° La forme beaucoup plus allongée ;

2° Les dimensions quelquefois triples ;

3° Les parois cellulaires plus minces ;

4° La couleur jaunâtre et non brune ;

5° Le nombre des cellules composantes beaucoup plus considérable.

6° Le prolongement du bec presque toujours très grand, tandis que dans la forme normale ce prolongement est d'ordinaire court, quelquefois nul.

Les dimensions dans une même série sont souvent sensiblement les mêmes, sauf pour la spore en voie de formation. Les exceptions ne sont pourtant pas rares, et il arrive surtout que la première spore formée est plus petite que la suivante (pl. II, fig. 11).

Ces spores en massif arrivent très vite à maturité ; les stades de développement sont fugitifs : on peut cependant les voir dans les cultures jeunes. Dans la règle la cellule terminale d'une spore en massif émet un petit prolongement qui tout de suite devient sphérique et prend un double contour, puis, très rapidement aussi, grossit et se cutinise en même temps. On voit alors souvent une division transversale de cette cellule ovoïde déjà brun clair ; puis allongement et division en trois, enfin élargissement de la base et subdivision ultérieure si ces phénomènes doivent avoir lieu. Généralement une spore ne commence à se former que lorsque celle qui la précède est presque mûre. On trouve cependant des exceptions et parfois deux ou trois spores se suivent sans être arrivées à maturité. Dans les cultures un peu anciennes la coloration de toute la série paraît identique, mais c'est que la formation s'est arrêtée et que la cutinisation s'est faite partout successivement.

Au moment de leur formation, les spores ont souvent une teinte verdâtre qui persiste assez longtemps dans le dernier article. Puis elles foncent peu à peu jusqu'à devenir d'un brun noirâtre. Dans les cultures en cellule la spore initiale se distingue facilement des autres rien qu'à ce caractère (pl. II, fig. 11).

On voit, d'après cela, qu'il n'est pas possible de baser, comme on le fait si souvent, une distinction spécifique entre les *Alternaria* ou les *Macrosporium* divers sur l'un de ces caractères, et que les dimensions et la forme en particulier sont loin d'avoir la valeur systématique qu'on leur prête.

L'impossibilité de trouver un caractère fixe de classification dans l'appareil végétatif et dans les formes reproductrices qui en dérivent directement, est d'ailleurs une conclusion générale de toutes ces recherches.

VII. — SPORES EN MASSIF ET MYCÉLIUM DURABLE.

De ce que les spores en massif sont ici beaucoup mieux différenciées et mieux fixées, s'ensuit-il qu'on ne peut les homologuer avec le mycélium durable ? Évidemment les passages moins nombreux rendent l'assimilation plus difficile.

Cependant on trouve des spores articulées sur l'axe et se prolongeant en un filament mycélien cutinisé et parfois ramifié. Ces spores pourraient être considérées comme des segments mycéliens différenciés, mais intercalaires au lieu d'être terminaux. Il faut toutefois remarquer que lorsque la spore se trouve ainsi placée, c'est toujours elle qui a produit le filament qui la prolonge. Jamais elle ne provient de la division d'une cellule préexistante sur un filament déjà formé comme c'était le cas si fréquent des formes macrosporioïdes de l'*Alternaria polymorpha* ; la production du filament qui prolonge la spore apparaît donc plutôt comme une germination sur place.

A ce point de vue la spore n'est jamais intercalaire :

elle est seulement le point de départ d'une nouvelle végétation qui reste fixée à l'ancienne.

Néanmoins on peut trouver assez souvent ces termes de passage qui sont la règle dans la première espèce : ainsi sur le bois (fig. 30 et Pl. II, fig. 6), sur le glycérophosphate monosodique (Pl. II, fig. 3), sur l'eau glycérinée où la végétation forme une épaisse membrane noire à surface tomenteuse blanche, avec des filaments floconneux descendant jusqu'au fond du liquide. Cette dernière culture offre tantôt un mycélium blanc dont certains articles se renflent en sphères intercalaires ou latérales colorées ; tantôt des séries plus ou moins longues de cellules cutinisées simples; tantôt encore des amas irréguliers ou peu réguliers de cellules brunes macrosporioïdes arrivant parfois au *Macrosporium* type et même (très rarement toutefois) s'arrangeant en courtes files alternarioïdes (fig. 31). On peut constater çà et là, la sortie de la cellule hors de sa cuticule, ou plutôt une tendance à la sortie ; la cellule est alors gonflée, amincie, transparente, ce qui contribue beaucoup à donner l'aspect irrégulier aux

Fig. 30. — Culture sur bois de peuplier.

Fig. 31. — Culture dans l'eau glycérinée. Formes de passage.

filaments, mais je n'ai vu nulle part dans les préparations, des sphères hors des cellules, comme dans d'autres milieux. On voit aussi très rarement les amas macrosporioïdes à leur place normale, articulés à l'extrémité des rameaux.

Dans cette préparation, ni la taille, ni la forme, ni le nombre des cellules, ni leur arrangement, ni leur situation ne sont donc caractéristiques, et la plante, bien qu'ayant des spores en massif, ne mérite plus guère la dénomination d'*Alternaria*.

VIII. — RÉSUMÉ.

Cette deuxième espèce est très distincte de la première (p. 93).

Elle est moins résistante aux milieux : la végétation en a été plus souvent faible ou nulle (p. 94).

Les acides lui sont défavorables (p. 95).

La cutinisation, et par conséquent la couleur des cultures, est très inégale suivant le milieu (p. 95).

Mise à germer sur eau de pomme de terre, la spore en massif (forme normale de reproduction) donne rapidement des files d'*Alternaria*. Le mycélium est très anastomosé, parfois tortueux sur plusieurs points, analogue aux débuts de périthèces obtenus par Zopf chez les *Chætomium* (p. 97).

Sur le milieu-type, la moisissure est gris brun ou verdâtre, épaisse. Il s'y produit abondance de spores en *Macrosporium* ou de formes macrosporioïdes (p. 96).

Le mycélium prend souvent des formes toruleuses (acétate de sodium, quinine, etc., etc.) (p. 100).

Le mycélium se dissocie quelquefois en formant des sortes d'oïdies, ou même arrive à végéter presque en levure (carbonate de sodium) (p. 104).

Si le mycélium est cutinisé, cette dissociation amènera la formation de formes fumagoïdes (eau glycérinée, acide gallique, etc.) (p. 106).

La spore en massif est le seul mode de reproduction. Mais

elle varie de forme, de dimensions, d'aspect suivant le milieu et quelquefois dans le même milieu (p. 108).

Il semble donc difficile de baser sur les caractères de ces spores des distinctions spécifiques (p. 112).

La forme *Macrosporium* semble n'être le plus souvent que la forme *Alternaria* dissociée (p. 108).

La différenciation des spores en massif est en général ici plus parfaite que dans l'espèce précédente (p. 108).

En tenant compte des divers passages, il existe pourtant deux types principaux de spores en massif. L'un est beaucoup plus grand, plus allongé, moins cutinisé, plus jaunâtre, à cellules plus nombreuses, à pointe prolongée plus ou moins. L'autre présente les caractères inverses (p. 111).

Les passages, quoique moins nombreux que dans l'espèce précédente, permettent d'homologuer les spores en massif et le mycélium durable (p. 112).

CLADOSPORIUM HERBARUM Link.

Répandu abondamment dans la nature sur toutes les parties des plantes mortes et sur beaucoup de plantes vivantes, le *Cladosporium herbarum* Link est une des Dématiées les plus communes sinon les mieux connues. Elle devait donc se trouver fréquemment dans les poussières de l'air, comme dans l'eau des solutions, et apparaître dans nombre de cultures.

L'événement a montré qu'on le trouvait en effet très souvent dans ces conditions. C'est même une des rares espèces que l'on peut reconnaître à l'examen direct de la moisissure flottante ou du dépôt, grâce à la couleur et à la forme de ses spores et de ses articles dissociés (1).

Il était intéressant d'étudier à nouveau cette espèce si souvent décrite et cultivée, et de voir si les conditions spéciales adoptées ici ne permettraient pas, soit de découvrir de nouvelles formes dans une espèce naturellement plastique et polymorphe, soit de discuter les opinions émises sur son compte et certaines assimilations plus apparentes que réelles.

I. — VALEUR ET LIMITES DE L'ESPÈCE.

a. — **Généralités.** — On doit d'abord se demander si le *Cladosporium* existe en tant qu'espèce. En effet, dans un travail de grand intérêt (2), Berlese exprime l'opinion que l'on

(1) Du reste le champignon prend souvent, dans la solution même, un grand développement. Dans un flacon de bromure de potassium, il formait des végétations hémisphériques verdâtres d'environ 1 centimètre de diamètre, et d'aspect velouté.

(2) A.-N. Berlese, *Première contribution à l'étude de la morphologie et de la*

a affaire à une forme commune à plusieurs Ascomycètes voisins, forme conidienne non distincte aux points de vue morphologique et biologique, mais faisant probablement partie de cycles différents.

L'auteur base son opinion sur les faits suivants :

Il a récolté parfois des *Cladosporium* différents du type (sur *Arundo Donax* par exemple) et donnant une forme *Hormodendron* distincte aussi de l'*Hormodendron* ordinaire.

Il a pu obtenir, en cultivant un *Cladosporium* récolté sur des feuilles d'*Eronymus*, des pycnides qu'on peut rapporter au genre *Phleospora*, tandis que : — 1° de Janczewski a découvert que le *Leptospheria tritici*, le *Septoria tritici* et un *Phoma* sont intimement en relation avec le *Cladosporium*. — 2° Pirotta, en cultivant des conidies de *Cladosporium* récoltées sur du houblon a obtenu des conceptacles du genre *Phoma*. — 3° Costantin (1) rapproche le *Cladosporium* des *Alternaria* et, par conséquent du *Pleospora herbarum*.

Aussi Berlese ne croyant pas possible d'assimiler des choses si diverses, obtenues par les observateurs les plus compétents, est-il tenté de croire que chacun d'eux a eu entre les mains une forme conidienne différente, qu'il a rapportée au *Cladosporium*, mais que c'étaient là des aspects analogues de champignons distincts.

Il est certain que beaucoup de Dématiées ont des formes cladosporioïdes, et l'hypothèse de Berlese n'a rien d'invraisemblable *a priori*. Mais ce n'est là, me semble-t-il, qu'une hypothèse dont la démonstration reste à faire, pour plusieurs raisons :

1° Berlese accepte, sur l'autorité incontestable de son auteur, l'assimilation que Costantin fait du *Cladosporium* et de l'*Alternaria*. Mais l'opinion de cet auteur sur ce point

biologie de Cladosporium et Dematium (Bull. Soc. mycol. de France, 1895, p. 34 à 74.

(1) J. Costantin, *Sur les variations des Alternaria et des Cladosporium* (Rev. gén. de Bot., t. I).

a été discutée et je ferai moi-même plus loin quelques réserves à ce sujet.

2° Pour de Janczewski, il est exact que, dans un premier travail (1), il a considéré le *Cladosporium herbarum* comme appartenant au cycle évolutif des espèces citées (les spermogonies rentrant dans le genre *Phoma*, les pycnides dans le genre *Septoria*, et les périthèces représentant le *Leptosphæria tritici* de Passerini) ; il dit en effet que le *Leptosphæria tritici* est un vrai parasite, dont la forme conidienne, désignée jusqu'à présent sous le nom de *Cladosporium herbarum*, peut parfaitement vivre en saprophyte, se transformer en *Hormodendron* ou en *Dematium* et devenir une moisissure des plus communes. Mais l'année suivante (2) il a renoncé à cette assimilation et rapporté le *Cladosporium herbarum* au *Sphærella Tulasnei*, nouvelle espèce décrite par lui. Dans un mémoire ultérieur (3) sur ce sujet, il dit textuellement du *Septoria* et du *Phoma* « avec le *Sphærella Tulasnei* elles n'ont rien de commun ». Il est vrai que le *Cladosporium* lui a donné le *Sphærella* tandis que Berlese en obtenait les pycnides du *Phleospora*, mais il se peut en effet que l'espèce fournisse, suivant les conditions d'existence, tantôt une forme pycnidaire, tantôt une forme ascoporée.

3° Enfin pour Pirotta, rien ne prouve, d'après ce qu'en dit Berlese, que son *Phoma* (sans doute le même que celui dont parle de Janczewski et qu'il considère comme un simple compagnon, mais compagnon très habituel du *Cladosporium*) soit produit par le *Cladosporium*. Il faut remarquer en effet que, dans le semis de conidies provenant des feuilles du houblon, Pirotta a obtenu des choses diverses : tantôt l'*Hormodendron* ou le *Cladosporium* lui-même, tantôt

(1) E. de Janczewski, *Polymorphisme du Cladosporium herbarum* (Bull. Acad. des Sc. de Cracovie, déc. 1892 ; d'après Rev. mycolog., 1893, p. 41).

(2) *Les périthèces du Cladosporium herbarum* (Ibid., 1893, p. 271, d'après Rev. mycolog., 1894, p. 133).

(3) *Recherches sur le Cladosporium herbarum et ses compagnons habituels, sur les céréales*, avec résumé français (Ibid., 1894).

le *Phoma*, tantôt enfin le *Dematium pullulans*, que je démontrerai, après Berlese lui-même, n'appartenir aucunement au *Cladosporium*.

De cette discussion un peu longue, il résulte, que si l'hypothèse de plusieurs espèces réunies actuellement sous le nom de *Cladosporium herbarum* n'est pas à rejeter sans autre examen, elle doit être confirmée par d'autres preuves. En tout cas, la forme *Hormodendron cladosporioides* dont je vais avoir à parler, forme typique, me semble encore actuellement caractériser l'espèce.

C'est au *Cladosporium* se présentant souvent sous cet aspect typique, qu'ont eu affaire Laurent, Costantin, Pirotta, et c'est lui que j'ai eu moi-même comme sujet de mon étude. C'est à lui que l'on a attribué plusieurs fois les *Alternaria* et le *Dematium pullulans* ; je le considérerai donc comme une entité bien déterminée donnant comme phases ou aspects principaux :

Une forme conidienne : *Hormodendron cladosporioides* de Saccardo.

Une forme pycnidaire : *Phleospora* de Berlese.

Une forme périthécienne : *Sphærella Tulasnei* de de Janczewski.

b. — **Caractère principal.** — Dans la nature, le *Cladosporium herbarum* offre des caractères très variables. En général, lorsqu'il est bien développé, il forme des touffes hémisphériques verdâtres, d'où rayonnent des filaments assez raides, cloisonnés, bruns, ramifiés, terminés par des spores ou des chapelets de spores qui se confondent peu à peu avec les articles supérieurs des filaments ; ces spores sont uni ou pluri-cellulaires, et dans ce dernier cas plus allongées et àcloisons toujours parallèles. Ce passage insensible entre les articles mycéliens et les conidies avait été fort bien vu par Link quand il avait créé le genre *Cladosporium*, dont le nom indique ce caractère essentiel. Ces spores sont bien réellement des rameaux qui se modifient, se détachent, et sont aptes à germer.

c. — **Parasitisme.** — La variabilité de cette espèce, même sous sa forme conidienne, est très grande. Elle a été diversement expliquée et paraît en rapport avec le mode de vie. La multiplicité des formes que j'ai obtenues montre qu'il suffit de peu de chose pour amener des changements importants. Si donc la plante peut vivre dans la nature, tantôt en parasite, tantôt en saprophyte, on conçoit qu'elle doive se modifier suivant le cas. Or, c'est là l'opinion la plus acceptée aujourd'hui. Le parasitisme du *Cladosporium* a été fort discuté et l'étude de cette question ne m'arrêtera pas, car elle sort tout à fait du cadre de ce travail. Les expériences de de Janczewski l'amènent à croire à un simple saprophytisme, opinion déjà émise par Kuhn et autres; Prillieux et Delacroix, entre autres observateurs, sont tentés d'y voir un parasite facultatif ou même un vrai parasite attaquant les feuilles des pommiers, framboisiers, etc. C'était aussi l'avis de Corda, Haberlandt, etc. Pour Berlese c'est un vrai parasite qui s'est merveilleusement adapté à la vie saprophytique, sans perdre pourtant tout à fait la possibilité de redevenir parasite, ce qu'il doit faire de temps en temps ; et la multiplicité des formes qui lui fait présenter tous les stades entre les genres *Cladotrichum*, *Cladosporium* et *Diplococcium* est due à ces différentes conditions de développement: parasitisme, demi-parasitisme, saprophytisme.

Je n'ai pas étudié la question.

d. — **Variétés.** — La différence d'aspect dans la nature même a valu la création de plusieurs variétés dont la plus connue est la forme appelée *Hormodendron cladosporioides* par Saccardo et que Frésénius avait décrite sous le nom de *Penicillium cladosporioides*. Le rapprochement de ces deux variétés, soupçonné par Tulasne, semble-t-il, a été fait à peu près en même temps par Laurent qui publia le premier ses résultats, et par Costantin. Lorsque ces deux types sont bien caractérisés, leur distinction est simple, mais les passages sont nombreux et l'on peut difficilement leur

donner même la valeur de formes. J'aurai l'occasion de revenir plus tard sur ce point intéressant et de bien montrer l'identité des deux plantes.

Dans toutes les cultures faites, je suis parti comme pour les autres espèces étudiées, d'un semis pur, unique pour tous les milieux, c'est-à-dire en somme d'une seule spore; je laisse donc de côté ici la discussion sur les diverses formes : (*repens* de Frésénius, formes naines ou géantes, espèces diverses à caractères instables, etc.).

Il semble à Costantin que les nombreuses espèces décrites (118 dans Saccardo) reposent souvent sur des caractères fragiles et qu'un travail de révision est nécessaire. En constatant l'extrême variabilité de la plante dans la nature et dans les cultures, en voyant par exemple la descendance d'une même spore présenter, comme dans les conditions choisies ici, les formes les plus diverses, stériles ou fertiles, et la plus grande variété de dimensions, on ne peut qu'approuver cette manière de voir. Autant il importe, lorsqu'on n'a pu saisir aucun passage réel et que les conditions identiques n'amènent pas des modifications identiques aussi, de distinguer nettement des plantes bien autonomes, autant il faut chercher à simplifier une nomenclature inutilement chargée, en réunissant toutes les formes qui ne diffèrent que par des caractères futiles, instables, et que l'on peut pour ainsi dire faire varier à volonté.

e. — **Place dans la classification.** — Je ne discuterai pas ici la classification de cette plante parmi les Ascomycètes. Je n'en ai pas obtenu de périthèces, ceux-ci ne se produisant que dans des conditions très différentes de celles où je me suis mis. Je rappellerai donc simplement (1) que le *Cladosporium* a été longtemps considéré comme faisant partie du cycle évolutif du *Pleospora herbarum* (Tulasne, etc.), idée abandonnée quand on vit que la forme conidienne du *Pleospora* était un *Alternaria* ou un *Macrosporium* (Gibelli et Griffini,

(1) Voyez pour cet historique, les mémoires cités de de Janczewski, Costantin, Berlese, etc.

Bauke, Kohl, Mattirolo, etc.) et reprise sous une autre forme quand Costantin a cru devoir rapprocher le *Cladosporium herbarum* de l'*Alternaria tenuis*.

Enfin de Janczewski, par des inoculations sur des plantes vivantes, a pu déterminer la production de sclérotes, puis de périthèces, et a reconnu en eux une espèce nouvelle qu'il a nommée *Sphærella Tulasnei*. La preuve de l'exactitude de ces résultats a été donnée par la culture des ascospores qui ont reproduit le *Cladosporium*, et cette détermination doit être considérée comme acquise.

Je rappelle aussi que Berlese a vu dans des feuilles d'*Evonymus* un stroma ayant les caractères d'un sclérote, et qui, en résorbant sa partie centrale et en organisant sa paroi, constitue une pycnide d'où sortent des spores bacillaires. L'auteur ne semble pas avoir cherché à obtenir le *Cladosporium*, en semant ces stylospores, ce qui eut donné une démonstration parfaite. Néanmoins, malgré cette lacune, je ne doute pas que ces pycnides que Berlese rapporte à un *Phleospora*, ne soient réellement une forme du *Cladosporium*. Cette identification, outre qu'elle est garantie par l'autorité scientifique de son auteur, paraît bien prouvée par la description et les dessins du mémoire, comme aussi par la situation de la pycnide au sein d'un stroma en continuité avec les filaments de l'*Hormodendron*.

J'ai cependant tenté d'obtenir des périthèces par des cultures sur du bois, soit simplement humide, soit imprégné de diverses substances, peu favorables au champignon (acide gallique, acétate de sodium), ou au contraire, favorables (mannite, glycérophosphates, etc.), mais malgré sa durée, l'expérience ne m'a donné aucun résultat. Des coupes dans le bois ont montré que les filaments mycéliens du champignon pénétraient dans les vaisseaux, et même dans la cavité des fibres ligneuses et les remplissaient presque complètement. On y voyait des filaments çà et là renflés, comme ceux qui constituent le coussinet caractéristique

extérieur, mais jamais de vrai sclérote et moins encore de périthèces.

II. — ORIGINE DES CULTURES.

Le point de départ de cette étude a été un *Cladosporium herbarum* obtenu par la culture d'un flocon blanc, brunâtre par places, trouvé dans une solution de bromure de sodium provenant de l'hôpital Laënnec (1).

D'autres milieux m'ont également donné cette espèce (lactophosphate de calcium), moins souvent cependant qu'il ne semblait probable *à priori* : mais la raison du fait est simple : le *Cladosporium herbarum* semé sur le milieu-type (pomme de terre acidulée) y pousse avec une grande lenteur (on verra que les acides ne lui sont pas favorables), et son développement est longtemps entravé par les espèces à végétation rapide. Les *Penicillium*, en particulier, ont recouvert toute la pomme de terre d'une couche verte épaisse, avant que le *Cladosporium* ait commencé sa multiplication, et jamais celui-ci n'est assez vigoureux pour dominer plus tard comme le font d'autres espèces. Des *Aspergillus*, par exemple, ont une croissance moins rapide que le *Penicillium glaucum*, mais, lorsqu'ils sont mêlés à lui, on les voit souvent apparaître au bout de quelques jours sur un point, et lutter, non sans avantage, contre le premier occupant. Ici rien de pareil : le *Cladosporium* ne soutient pas la lutte. J'ajoute qu'il ne la soutient pas non plus avec les bactéries toujours très nombreuses, et dont quelques espèces se développent malgré l'acidité du milieu. En un mot, j'ai toujours eu au début la plus grande difficulté à obtenir les cultures de *Cladosporium* à l'état de pureté, et je suis convaincu que, dans nombre d'expériences, ce champignon,

(1) Cette même solution avait donné aussi : le *Penicillium glaucum*, un *Cephalosporium* dont l'étude n'a pas été continuée et un *Oospora* prenant sur la plupart des milieux un aspect crayeux blanchâtre, et donnant à la pomme de terre, sur laquelle on le cultive, une coloration bleue intense.

dont je voyais les débris ou les spores à l'examen direct des solutions, m'a complètement échappé à cause de son développement tardif et de son infériorité dans la lutte.

Dans les solutions il a souvent l'aspect d'un flocon brunâtre ou de petits flocons divisés et colorés (1). Mais il est fréquent de le trouver aussi autour du bouchon des flacons, sous forme de petites granulations noirâtres. Au microscope ces granulations se montrent constituées par une masse serrée, homogène, de filaments courts, assez épais, analogues en somme (sauf la disposition en tétrades qui manque ici) à une germination de *Fumago*. Si on sème en milieu favorable, ces filaments s'allongent et les articles prennent bientôt l'aspect et les denticulations caractéristiques du *Cladosporium*.

III. — RÉSISTANCE AUX MILIEUX.

Semé et cultivé à l'état de pureté sur le milieu-type, le champignon s'y développe, mais lentement. Malgré cette difficulté à pousser sur pomme de terre acide, l'espèce s'accommode très facilement de la plupart des milieux (2). Les résultats ont été tout à fait négatifs pour 6 milieux seulement : (acides citrique, sulfurique, tartrique; alun; chlorure d'ammonium; iodure de potassium), et très médiocres pour 9 autres (acide glycérophosphorique, acide borique, lactophosphate de calcium, chlorure de baryum, quinine, cocaïne, liqueur de Fowler, acétate de sodium, eau

(1) Il ne paraît pas douteux que l'*Hygrocrocis arsenicus* décrit et dessiné par Marchand (C. R., 11 nov. 1878 et fig. in Bot. crypt.) ne soit une forme immergée du *Clad. herbarum*. Quelques particularités de la figure peuvent faire hésiter un peu : les pinceaux dessinés se rapprochent plus des *Penicillium* vrais que des *Hormodendron*. Les *sporangioles* décrits et des corps spéciaux ne répondent à rien de ce que j'ai vu dans la liqueur de Fowler, et appartiennent peut-être à quelque champignon différent, mais l'ensemble du végétal représenté est bien le *Cladosporium*, modifié par l'immersion et le milieu.

(2) M. Ménier l'a trouvé vivant en taches noires, sur de la gaze iodoformée (Journ. de Pharm. et de Chim., 1891, t. I, p. 442).

de cannelle). On voit qu'ici encore, les milieux à réaction acide se sont montrés défavorables ou réfractaires, et qu'avec les solutions d'alcaloïdes on n'a pas obtenu les résultats qu'on avait eus ailleurs. Il faut ajouter que l'acide gallique n'a donné de végétation que dans la région émergée du tube.

L'*acétate de sodium* s'est montré particulièrement défavorable ; à 1 p. 100 l'accroissement est encore sensible, mais à 5 p. 100, et *à fortiori* à dose plus élevée, aucun développement ne se fait.

La *liqueur de Fowler* n'est pas absolument funeste à cette espèce, mais peu s'en faut. Si l'on diminue la proportion normale d'arsénite de potassium, la plante pousse légèrement. Si on l'augmente, au contraire, aucune végétation ne se produit.

Le développement a été par contre assez abondant ou même très abondant dans presque tous les autres milieux. C'est donc là une espèce à adaptation facile dans les liquides les plus divers.

Les semis de contrôle ont montré quelques résultats intéressants. L'espèce avait bien poussé sur le bouillon, la gélatine, la gélose, le sulfate de magnésium, l'eau distillée, etc., mais a bientôt perdu sa vitalité. Inversement, quelques liquides, comme l'alun ou le chlorure d'ammonium, qui semblaient ne rien contenir, ont conservé la vie des spores semées.

IV. — ASPECT GÉNÉRAL DES CULTURES.

Sur les milieux solides favorables, le champignon s'étend sous forme de masses épaisses, noires ou verdâtres, divisées ou confluentes, à bords très nets, saillants.

Dans les divers milieux liquides l'aspect varie beaucoup plus. Chez ceux où la végétation est puissante, le champignon vient former à la surface une membrane épaisse, verdâtre ou noirâtre (gomme, bouillon, gaïacol, mannite, etc.). Assez souvent le liquide contient des flocons

brunâtres (mélisse, bromure de sodium) ou gris noirâtre (glycérophosphates, eau pure et eaux distillées diverses, sulfate de magnésium, etc.), ou gris (chlorure de sodium), quelquefois même à peu près incolores (ferrocyanure de potassium).

D'après la plupart des auteurs, le *Cladosporium herbarum* n'est pas du tout anaérobie, tandis que le *Dematium* en serait la forme aquatique. Il est vrai que lorsqu'il pousse abondamment, ce champignon forme d'ordinaire une épaisse membrane superficielle et pénètre peu dans le liquide sous-jacent. Mais les exceptions sont nombreuses : il est fréquent de voir sur le tube de culture de petits groupes étoilés à centre brun verdâtre, à filaments rayonnants plus clairs, gris ou blancs et qui sont appliqués contre la paroi du verre au-dessous du niveau du liquide. Ils adhèrent d'ailleurs faiblement (eau glycérinée, glucose, acétate, phosphate acide, iodure, arséniate de sodium, etc.). Lorsque le tube n'est pas agité, ils doivent vivre là à peu près sans air. Souvent aussi des membranes superficielles finissent par tomber au fond si on agite le tube, ou même spontanément, et y végètent parfaitement sans rien perdre de leur vitalité. On a vu que des flocons ou des dépôts sont très fréquents : le liquide de Raulin, par exemple, contient une végétation dissociée en dépôt au fond du tube. Laurent, qui considère le *Dematium pullulans* comme une forme affaiblie et dégénérée du *Cladosporium*, pense que, sous l'influence de la lumière ou pour toute autre raison, le *Cladosporium* acquiert la possibilité de vivre en anaérobie et même de germer dans le vide, et conclut que les types de dégénérescence du champignon sont mieux doués que le type originel. On verra plus loin que ces différences s'expliquent bien mieux encore en admettant la distinction spécifique des deux champignons. En tout cas, la présence dans les cultures des végétations pariétales immergées, des flocons de couleur diverse dont il a été question plus haut, et du dépôt qui se forme dans le liquide de Raulin, indiquent

nettement que cette espèce peut vivre à l'abri du contact direct de l'air (1). Je rappelle ici que les semis de contrôle ont permis d'affirmer pour tous ces milieux, qu'ils contenaient seulement l'espèce étudiée.

V. — GERMINATION ET PREMIER DÉVELOPPEMENT SUR DIVERS MILIEUX.

α. — Eau de pomme de terre. — Lorsqu'on sème en cellule sur couvre-objet quelques spores dans de l'eau de pomme de terre, on voit la germination commencer presque aussitôt, Les spores grossissent, tendent à devenir sphériques, et leur coloration pâlit beaucoup. Les fragments mycéliens qui les accompagnent dans le semis participent à ces modifications, mais en raison de leur différenciation : le mycélium caractérisé pousse pourtant aussi, mais plus lentement, sans se gonfler d'abord, et en conservant sa couleur foncée.

La germination se fait tantôt sur un point, tantôt aux deux extrémités, et le petit mamelon blanchâtre saillant, est entouré par une région très décolorée de l'exospore. Le plus souvent la première cellule s'allonge en un filament divisé, qui, dès le début, se termine par une spore arrondie ou ovoïde, incolore. Cette première spore en donne bientôt une seconde par bourgeonnement apical (vingt-quatre heures), puis d'ordinaire une 3ᵉ se forme latéralement, à côté de la première, sur le sommet du filament sporifère, formant ainsi le début d'une ramification. La dernière cellule du filament a déjà alors deux pointes et a pris le caractère des articles du *Cladosporium*. Bientôt, si la végétation est vigoureuse, d'autres spores suivent les premières (quarante-huit heures) : la plus jeune est toujours la spore terminale, le développement étant

(1) Du reste, l'expression *anaérobie*, employée par les auteurs, n'est pas ici prise au sens absolu. Dans les liquides de ce genre, l'air est très diminué, mais l'absence n'en est pas complète. Les anaérobies vrais sont for rares dans la nature.

centrifuge. En général, comme chez les *Alternaria*, cette spore terminale est sphérique d'abord, puis s'allonge quand la suivante se forme, mais les exceptions sont nombreuses (fig. 32).

A côté des filaments sporifères se montrent souvent des ramifications stériles. Le troisième jour, il est fréquent de voir les filaments s'allonger beaucoup et se terminer en

Fig. 32. — Culture en cellule sur eau de pomme de terre : *a*, au bout de douze heures ; *b*, au bout de vingt-quatre heures ; *c*, deux jours ; *d*, trois jours.

pointe, les spores formées sont rejetées sur le côté ou se détachent : ce phénomène paraît être en rapport avec la dessiccation progressive de la lamelle, et les filaments fins, stériles s'étendent surtout hors de la gouttelette liquide. Les spores détachées se cutinisent et prennent une teinte jaune.

En somme, la sporulation se fait suivant le type *Cladosporium* et la ramification n'arrive pas à la forme *Hormodendron*. Cette sporulation est rapide, presque au sortir de la spore primitive, qui reste simple et ne forme pas de massif.

Une fois cependant et sans que j'aie pu en trouver la raison, une culture faite dans des conditions identiques a germé différemment : les conidies se sont gonflées très lentement puis, vers le troisième jour, ont commencé à se diviser chacune en un petit groupe de cellules courtes et

colorées, sorte de massif central d'où partaient lentement des filaments trapus à larges cellules. Des spores se sont montrées aussi, mais plus tard (vers le sixième jour). Il y a tendance à la formation d'un tubercule central et le retard

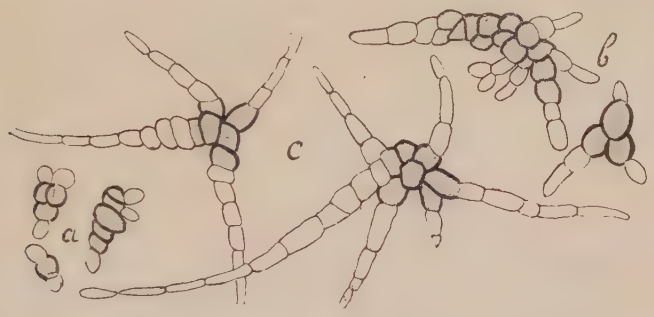

Fig. 33. — Germination anormale en cellule sur eau de pomme de terre. *a*, au bout de quatre jours ; *b*, cinq jours ; *c*, six jours.

de la germination paraît en rapport avec une cutinisation plus forte (fig. 33).

β. — *Gélatine nutritive*. — La germination sur gélatine est analogue, mais diffère surtout par la production rapide de la forme *Hormodendron*, ainsi que Laurent (1) l'a déjà indiqué. Les premiers stades se font comme sur l'eau de pomme de terre. Cependant les filaments sont plus trapus. La plupart d'entre eux se terminent vite par une spore, puis par un petit chapelet (deuxième jour). Ensuite la ramification s'étend, les filaments s'allongent et diffèrent : les uns restent au sein de la gélatine et s'y terminent soit par des spores isolées, soit par de petits chapelets, soit enfin par de courtes ramifications cladosporiennes ; les autres sortent de la gouttelette et viennent donner au dehors, à l'air libre, des ramifications très nettes d'*Hormodendron*, à spores tantôt ovales, tantôt arrondies. Généralement, les branches qui portent des *Hormodendron* sont plus courtes que les autres (fig. 34). Du reste, on peut ici, comme dans

(1) Laurent, *Recherches sur le polymorphisme du Cladosporium herbarum* (Ann. de l'Inst. Pasteur, t. II, p. 558 à 566, et p. 581 à 603).

les cultures en tube, trouver des passages entre l'*Hormodendron* et la spore isolée. Les branches, stériles ou non, qui s'étendent dans la gélatine sont très ramifiées : la première

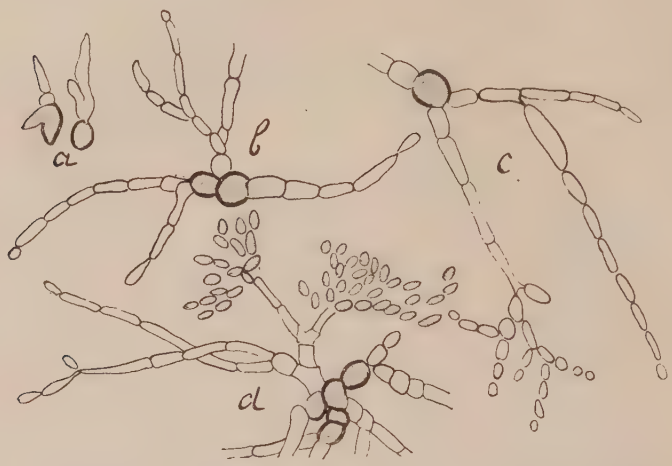

Fig. 34. — Culture en cellule sur gélatine nutritive. *a*, un jour ; *b*, deux jours ; *c*, trois jours ; *d*, quatre jours.

cellule de chaque rameau est assez souvent renflée, mais ce caractère n'est pas absolu.

Certaines cultures dans des conditions identiques se montrent plus abondamment et plus rapidement ramifiées : elles sont dans ce cas moins vite fructifères.

On voit qu'ici encore la cellule semée donne des filaments, mais ne se divise pas en un massif cellulaire central. On voit aussi que le *Cladosporium* immergé peut vivre, se développer vigoureusement et fructifier. Les spores émergées ne se montrent que plus tard.

Berlese a décrit avec détails la formation des conidies de l'*Hormodendron* dans les cultures à goutte pendante. Il a montré que les filaments sortant de la gouttelette prennent au sommet une papille sphéroïdale, qui s'allonge ensuite et en forme à son tour une autre, souvent deux divergentes, donnant des chapelets décroissants.

Dans les développements les plus favorisés par le milieu,

les conidiophores sont très régulièrement dichotomisés, les articles inférieurs longs et foncés, cloisonnés souvent, les supérieurs arrondis, petits, presque blancs.

Ainsi que l'observe très bien Berlese, les articles les plus anciens, les plus mûrs, sont aussi les moins adhérents et se détachent, entraînant avec eux le reste de la file, qui se désarticule aussi (sauf cependant les derniers articles, non mûrs, qui peuvent rester réunis). Entre chaque conidie, Berlese décrit un isthme court que j'ai observé quelquefois (eau glycérinée, etc.), mais qui me semble exceptionnel.

On remarquera que les Champignons à spores en chapelet dont le développement est centrifuge (*Hormodendron*, *Alternaria*, etc.) ont, au point de vue de la reproduction, un désavantage sur les espèces à chapelets centripètes (*Penicillium*, *Aspergillus*, etc.). Ceux-ci ne laissent tomber que les conidies mûres, et amènent toutes les autres successivement à maturité. Les *Hormodendron*, au contraire, se désarticulant à la base, les conidies supérieures sont incapables de germer, ainsi que le montrent bien les semis en cellules, et le conidiophore doit s'allonger après la chute pour donner une nouvelle génération conidienne.

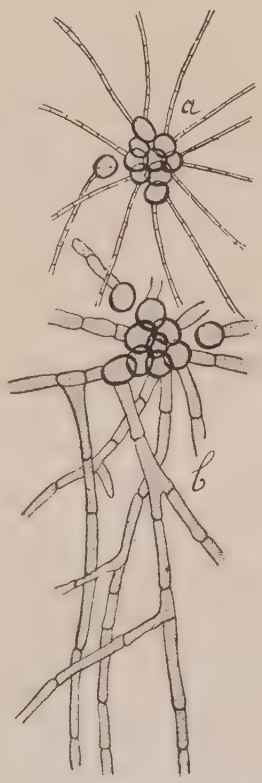

Fig. 35. — Culture en cellule sur gomme. — *a*, au bout d'un jour; *b*, au bout de cinq jours.

γ. — *Gomme.* — J'ai encore étudié la germination de ces spores en cellule sur un troisième milieu, la gomme en solution très épaisse, visqueuse, milieu qui s'était montré favorable. La germination est ici toute différente. Dès le début, chaque spore émet un filament

très fin et stérile, qui d'abord s'allonge démesurément tout droit, sans se ramifier; les petits groupes de spores ont alors l'aspect de centres rayonnants (24 heures). Bientôt ramification abondante (fig. 35); des spores apparaissent, presque toujours sur les filaments émergés et en ramification hormodendroïde, mais moins nombreuses que sur la gélatine.

Mycélium très abondant et très rameux, mais fin, de même diamètre sur toute sa longueur; nombreuses gouttelettes d'huile donnant au filament un aspect spécial. Enfin, les cellules d'origine forment d'ordinaire un petit groupe central, qui ne se rencontre ni dans l'eau de pomme de terre, ni dans la gélatine, et qui pourrait être pris pour le début d'un tubercule; mais il ne se forme pas de tubercule réel. Chaque spore initiale est isolée.

Il faut remarquer encore qu'ici les fructifications d'*Hormodendron* sont portées à l'extrémité de filaments très allongés et très abondants, et que la brièveté de l'appareil végétatif n'est pas, comme on l'a dit, une caractéristique de l'*Hormodendron cladosporioides*.

VI. — CULTURE SUR LE MILIEU-TYPE

Le *Cladosporium herbarum* trouve, sur ce milieu, des conditions défavorables. Il y pousse pourtant, mais avec une grande lenteur, et forme tantôt une masse unique, tantôt de petits coussinets séparés, d'un brun un peu verdâtre, presque noir. On a, d'ordinaire, beaucoup de peine à débarrasser les cultures d'un tomentum grisâtre qui les recouvre complètement ou par places, et qui n'est autre qu'une Dématiée vivant, semble-t-il, en parasite sur le *Cladosporium*. La végétation est très nettement limitée, massive, quelquefois mamelonnée, non tomenteuse, à surface souvent un peu humide. Elle est dure, résistante, élastique, difficile à fragmenter avec le fil de platine.

Autour du champignon, la pomme de terre prend une teinte brunâtre.

J'ai dit que cette végétation était fort lente. Elle demande même, à l'étuve, plusieurs jours, et le temps nécessaire est en rapport avec l'acidité de la pomme de terre.

Il semble qu'elle soit retardée plus encore lorsque le semis provient de certains milieux. En tout cas, il faut conserver longtemps les tubes de contrôle avant de décider qu'ils n'ont pas donné de résultat. Beaucoup n'ont poussé qu'au bout de huit ou dix jours.

Dans l'eau du fond du tube, il se développe des flocons d'abord blanchâtres, puis bientôt de couleur foncée, noirâtre.

Les caractères que présente cette culture au microscope

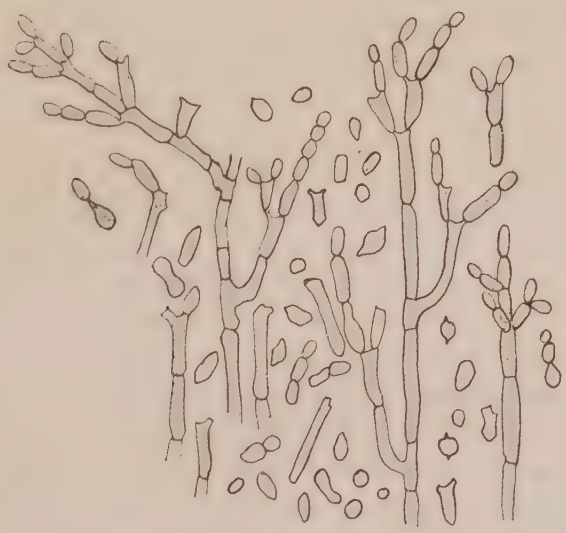

Fig. 36. — *Cladosporium herbarum*, type et conidies isolés. — Culture sur pomme de terre.

sont ceux du *Cladosporium herbarum* ordinaire. Le centre des végétations est constitué par un petit tubercule assez dur, dont j'indiquerai plus loin le mode de formation par enchevêtrement de filaments à cellules irrégulièrement arrondies

et brunes. De ce centre partent des rameaux raides, divergents, conidifères, avec les caractères ordinaires du *Cladosporium* (fig. 36).

Les branches sporifères sont presque toujours dépouillées de leurs conidies par la manipulation, et l'aspect *Hormodendron* manque le plus souvent.

La préparation est toujours remplie de conidies détachées à divers états et de formes variées, mais rarement pluricellulaires. La cutinisation est relativement faible. Les dimensions sont partout normales.

VII. — MODIFICATIONS MORPHOLOGIQUES DE L'ESPÈCE

Elles portent sur l'appareil végétatif, fertile ou non, pouvant donner des formes fumagoïdes et des chlamydospores, et sur l'appareil conidien.

1. — MYCÉLIUM

a. — **Cutinisation.** — Très variable, comme chez la plupart des Dématiées, la cutinisation peut se montrer faible ou nulle dans quelques rares milieux (gélatine, ferrocyanure de potassium). Dans beaucoup d'autres, surtout au début de la végétation, des filaments blancs et cutinisés s'entrelacent, ou le même filament présente alternativement des régions incolores et colorées, ces dernières généralement à articles plus volumineux (bouillon) ; le cas est assez rare.

Enfin, dans les filaments cutinisés eux-mêmes, de grandes différences se montrent. Certaines cultures ont une coloration homogène; chez d'autres, les articles terminaux ou intercalaires, plus fortement cutinisés, amènent au mycélium durable (glycérophosphate monosodique), ou à la chlamydospore (eau glycérinée, dextrine), ou encore à de véritables *fumago* (liquide de Raulin).

En somme, la couleur varie du blanc au brun, mais, sauf

cas exceptionnel, la cutinisation est rapide et plutôt faible. Cependant, la coloration générale des cultures est souvent foncée, ainsi qu'on l'a vu, mais c'est là un aspect d'ensemble, et le microscope montre fréquemment des teintes plus pâles que chez les autres Dématiées étudiées. La couleur du semis est quelquefois modifiée (liqueur de Fowler); le semis (à peine développé d'ailleurs) que l'on retrouve dans l'eau distillée de cannelle est devenu jaune pâle. Dans le phosphate acide de sodium, la couleur est rougeâtre ; dans la dextrine, elle arrive jusqu'au noir.

b. — **Mycélium normal.** — Le mycélium cutinisé se présente à l'étude sous deux formes principales : l'une à filaments brun foncé, d'allure raide, divergeant en tous sens, anguleux : c'est le type ordinaire du *Cladosporium herbarum*, fréquent dans les parties émergées des cultures ; l'autre à filaments beaucoup plus souples, emmêlés, plus verdâtres, généralement plus fins. Ces deux types, bien séparés d'ordinaire, peuvent présenter des passages (bouillon, quinine, etc.) ou, bien plus rarement, se rencontrer ensemble dans la même culture (mannite, gomme). La seconde forme est à peu près la seule dans les eaux distillées, et en général dans les végétations immergées.

Parfois aussi le mycélium forme un paquet très serré, (tubercules).

Les articles mycéliens varient assez. Le type est l'article cylindrique (mannite, etc.) allongé, brun plus ou moins foncé, et portant à l'extrémité supérieure une petite saillie articulaire. Mais on voit très souvent, surtout dans les parties centrales, les articles se tasser, devenir courts, isodiamétriques, colorés ou non. Les solides nutritifs, l'eau de cannelle, l'iodure de sodium, bien d'autres encore, en ont offert des exemples. Cette forme ne paraît aucunement en rapport avec la vitalité de l'appareil végétatif.

c. — **Tubercules.** — Sur la plupart des milieux, le *Cladosporium herbarum* forme de petits coussinets quelquefois volumineux, recouverts d'un feutrage de filaments saillants,

assez durs, et surtout très difficiles à dissocier, à cause de leur consistance élastique spéciale; ces coussinets sont constitués par des amas de cellules irrégulièrement arrondies et de filaments fortement cutinisés. Les cellules sont agglomérées sans vraie soudure et ne constituent pas un sclérote; les filaments sont irréguliers aussi, contournés, et leurs éléments se renflent souvent çà et là à des intervalles rapprochés. C'est de cet amas assez informe, de ce tubercule hémisphérique, que partent les filaments vraiment cladosporioïdes, raides et droits, d'abord stériles, puis sporifères, rayonnant autour de la masse centrale (Pl. III, fig. 6, 7, 11). Celle-ci, qui dérive probablement d'une seule spore primitive, varie dans ses dimensions depuis quelques cellules jusqu'à des masses très volumineuses. Cette disposition ne se rencontre pas seulement sur les corps émergés solides, comme la pomme de terre, mais aussi à la surface des liquides et dans les petits amas noir verdâtre étoilés, immergés, appliqués souvent contre les parois du tube. Ces sortes de tubercules sont inégalement serrés, et peuvent tantôt prendre presque l'aspect d'une sorte de sclérote, sans se souder toutefois; tantôt offrir un simple lacis de filaments irréguliers. Les cellules renflées peuvent aussi former des corps allongés, ovoïdes, sorte de mycélium durable qui simule une spore en massif, et peut donner l'illusion d'un élément d'*Alternaria* ou de *Macrosporium*, bien que, pour ma part, je n'aie jamais vu ces sortes de pseudo-spores se diviser autrement que suivant une seule direction perpendiculaire au grand axe (Pl. III, fig. 6, 11). Les parties émergées du mycélium prennent quelquefois aussi cette apparence trompeuse.

Ce sont là, sans nul doute, les corps décrits par de Janzewski (1) dans son étude du *Cladosporium*, et qu'il a obtenus sur les filaments naissant des ascospores de son *Sphærella Tulasnei* (2).

(1) De Janczewski, *Recherches sur le Cladosporium herbarum et ses compagnons habituels sur les céréales* (Bull. Acad. des Sc. de Cracovie, 1894).

(2) Ce mycélium portait souvent des organes, d'abord terminaux, plus tard

Les cellules du tubercule sont généralement très riches en huile. Celle-ci sort souvent des cellules et vient former dans la préparation des gouttelettes de toutes dimensions.

Le nombre, la direction, les dimensions, la fertilité, la couleur même des filaments sporifères qui rayonnent autour de la masse centrale varient naturellement beaucoup suivant le milieu.

d. — **Chlamydospores**. — Mais les filaments mycéliens ne sont pas toujours homogènes; outre les cellules irrégulièrement renflées du tubercule, on trouve souvent des éléments cutinisés plus fortement que les autres, plus sphériques et plus volumineux, formant, en un mot, des sortes d'hétérocystes, épars çà et là ou en courtes séries. Cet enkystement peut se rencontrer dans des végétations très faibles mais le plus souvent dans des cultures beaucoup plus puissantes (mannite). Il est d'ordinaire assez tardif. Ces cellules peuvent être aussi considérées comme des *chlamydospores* dont elles ont la fonction. Les filaments immergés dans l'eau glycérinée en montrent de nombreux exemples (Pl. III, fig. 3).

Ici, tout le mycélium est cutinisé, mais certaines cellules le sont beaucoup plus et finissent par s'isoler dans le liquide. On sait aussi que les parties immergées offrent souvent des cellules cutinisées séparées par des régions filamenteuses incolores (eau distillée, etc., etc.), qui disparaissent plus tard, laissant les cellules brunes comme forme de résistance. Ce sont là de vrais chlamydospores.

Quelques cultures sont intéressantes à ce point de vue.

intercalaires, dont la signification est, pour l'auteur, restée obscure. Ce sont des cellules renflées et divisées en plusieurs sens. En examinant les figures données, on est frappé de l'identité de ces corps avec certaines formes du mycélium durable que l'on a vues dans le développement des deux *Alternaria* déjà décrits. C'est un renflement *macrosporioïde*. Il joue probablement ici le rôle d'une forme de résistance du champignon, à moins que ce ne soit un début de sclérote. Les formes végétatives de tous ces champignons voisins sont évidemment très analogues. Il ne s'ensuit pas qu'on les doive identifier. — Voy. aussi des corps représentés par Brefeld chez des *Dothidea* (Brefeld, *loc. cit.*, Heft X, tab. 9).

Dans les solutions de *dextrine* (Pl. III, fig. 6), le champignon pousse très bien quoique assez lentement, et la végétation paraît en rapport avec la teneur en aliments, car elle est beaucoup plus vigoureuse dans la dextrine à 20 p. 100 que dans celle à 5 p. 100.

Cette culture est importante. Au début, les tubercules sont bien développés et formés de filaments enchevêtrés,

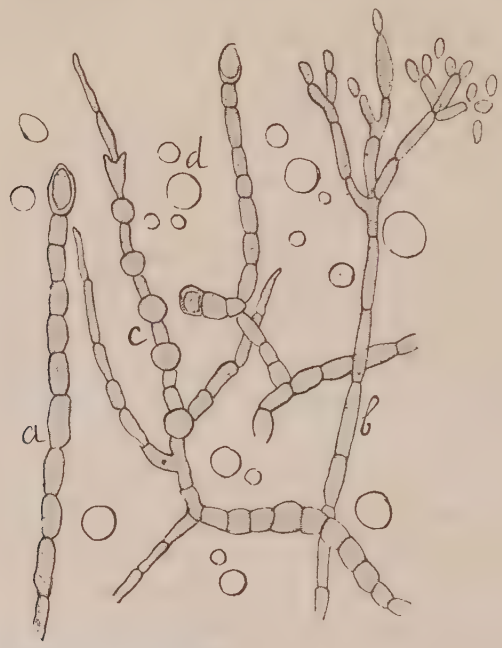

Fig. 37. — Végétation jeune sur dextrine à 20 p. 100. — *a*, filaments avec début de chlamydospores ; *b*, *Hormodendron*; *c*, filaments à cellules renflées ; *d*, gouttelettes d'huile.

à cellules courtes, arrondies. De ce lacis central lâche partent des filaments verdâtres aussi, et très divers, les uns terminés par des inflorescences de *Cladosporium*, d'autres portant des sortes d'hétérocystes (futures chlamydospores) à l'extrémité, latéralement ou sur leur trajet, d'autres, enfin, ramifiés et stériles, à articles alternativement renflés et normaux (fig. 37).

Dans la même solution, au bout de quelques mois, la

moisissure a poussé abondamment à la surface et sur les parois du tube dans le liquide. Les filaments offrent des chlamydospores espacées ou en séries, d'un brun foncé, à double contour bien marqué, presque noir, et qui peuvent s'isoler dans le liquide et y germer. La teinte générale des filaments est verdâtre. On peut suivre les modifications de ces chlamydospores, d'abord verdâtres aussi, et à cercle foncé, puis d'un brun rougeâtre, à enveloppe de plus en plus épaisse (Pl. III, fig. 10).

Les cellules condensent quelquefois leur protoplasma en une sorte de petite masse verdâtre centrale.

Les filaments sporifères sont raides, bruns, à spores pluricellulaires.

Autour des filaments et surtout des parties les plus cutinisées se trouvent des granulations mucilagineuses et quelquefois une sorte d'atmosphère de mucilage.

De nombreuses conidies, isolées ou en courtes chaînettes, nagent dans le liquide. Elles proviennent des filaments rigides qui partent du tubercule : souvent elles sont groupées en bouquet à l'extrémité de ces filaments, mais se détachent avec facilité.

La *gomme*, suivant sa viscosité, donne une végétation purement superficielle (gomme épaisse) ou accompagnée

Fig. 38. — Végétation jeune sur gomme épaisse. — Début de tubercule.

de quelques flocons dans le liquide (solution moyenne), ou des petites taches noires immergées sur la paroi du tube si fréquentes dans cette espèce (solution diluée). La forma-

tion des tubercules par l'enchevêtrement de filaments irrégulièrement toruleux se voit très nettement, surtout dans la végétation de la gomme épaisse (fig. 38). Avec le temps se forment d'innombrables conidies et souvent des *Hormodendron cladosporioides* au bout de filaments assez longs.

Dans nombre de milieux nutritifs en cultures anciennes (bouillon, etc.), les filaments incolores se renflent aussi de loin en loin et se cutinisent. Mais je dois cependant faire remarquer la rareté relative des chlamydospores, si fréquentes chez d'autres espèces, et que l'on retrouvera plus abondantes encore dans celle qui reste à étudier.

Les *renflements mycéliens* se rencontrent quelquefois dans les liquides à végétation défectueuse (gélatine ou bouillon en cultures anciennes, eau distillée de cannelle, acide borique, liqueur de Fowler, sulfate de quinine, etc.), mais ils sont exceptionnels et n'ont rien de caractéristique.

e. — **Formes fumagoïdes.** — Ces formes sont très rares dans les cultures de *Cladosporium*.

L'*acide gallique*, si remarquable par la tendance à l'enkystement qu'il imprime à la plupart des champignons, ne donne ici que des végétations émergées : les conditions de vie sont différentes par conséquent ; l'enkystement ne se produit pas, et le semis se retrouve intact après six mois.

Le *liquide de Raulin* (Pl. III, fig. 2) fournit par contre un type très remarquable à cet égard (1). Le champignon se développe dans ce milieu sous forme d'une végétation tout à fait

(1) M. Guéguen, en cultivant son *Hormodendron* sur liquide de Raulin, a obtenu des végétations différentes. Il a observé des filaments dont certaines cellules se divisent, contractent leur protoplasma en une masse colorée adhérente à la paroi, et forment au bout de quelque temps un corps intriqué, sorte de sclérote très friable, de dimensions variables.

Sur des coupes, ce pseudo-parenchyme contient de grosses cellules à parois épaisses et à contenu coloré central ou latéral. Ces cellules peuvent germer en un filament dont certains éléments condensent à leur tour leur protoplasma, grossissent et reproduisent les cellules primitives. Ce sont là, pour l'auteur, des chlamydospores ou des kystes, constituant une forme de résistance. Cette description se rapproche par quelques points de ce que j'ai vu, mais je n'ai jamais observé de pseudo-parenchyme.

noire, sur les parois du tube, à la surface et au fond du liquide. La teinte du fond est plutôt verdâtre. Au microscope, cette végétation est en petits groupes séparables composés chacun de quelques cellules au centre, et d'un, deux ou quelquefois trois filaments très courts, à cellules plus larges que longues, en général de moins en moins cutinisées. Les cellules centrales sont à peu près noires, un peu verdâtres, laissant difficilement voir le détail du petit massif. Autour des cellules, quelques granulations mucilagineuses. Enfin, dans les préparations se trouvent quelques gouttelettes huileuses sorties des cellules, dont la cuticule est quelquefois fendillée. Toute cette végétation est complètement stérile, et les groupes d'où n'émane aucun filament mycélien sont tout à fait semblables à des *fumago*. La paroi des cellules est assez épaisse et le double contour s'y voit bien d'ordinaire; mais elle n'est pas disproportionnée comme dans les cultures d'*Alternaria* dans l'acide gallique. C'est une forme stérile, à mycélium très ramassé, très court; forme d'ailleurs de résistance, car la vitalité en est parfaitement conservée après plusieurs mois, et forme non souffreteuse, car le développement des semis dans le liquide a été assez abondant, quoique peu rapide.

f. — **Mycélium stérile**. — Il est rare que la végétation soit dépourvue de tout organe de reproduction. Le fait peut cependant se produire, soit primitivement, soit à la longue (eau distillée, eau de cannelle, acide tartrique, phosphate acide de sodium, liqueur de Fowler, etc., etc.).

Les exemples suivants offrent seuls quelques particularités intéressantes.

Ferrocyanure de potassium. — Végétation faible et très lente. Il est rare qu'on y voie des spores ; en somme, mycélium presque stérile. Articles gros, courts et à membrane épaisse. On sait que ce milieu est défavorable à la cutinisation.

Gélatine nutritive. — On a vu le développement rapide de l'espèce sur la gélatine nutritive. Mais ce milieu s'épuise

avec le temps, et la végétation prend alors une forme spéciale. Le mycélium est devenu stérile. En outre, il n'est pas cutinisé ou à peine. Enfin, par sa forme sinueuse et rameuse, tout à fait distincte du type, il constitue un cas tout particulier. Les cellules en sont tantôt cylindriques, tantôt plus ou moins renflées, un peu irrégulières. Le protoplasma qu'elles contiennent semble être fortement huileux : et de plus il a subi une contraction qui le réduit à un petit disque verdâtre ou jaune verdâtre dont la couleur tranche vivement sur la cellule incolore ou faiblement colorée, et qui s'applique contre une des parois de cette cellule. Cet aspect est particulier à cette culture, mais ce n'est là qu'une simple forme végétative, d'importance secondaire (Pl. III, fig. 1).

Sous l'influence de ce champignon, la gélatine et le moût gélatiné se liquéfient.

Acide borique. — La végétation y est aussi absolument stérile et peu colorée ; la plupart des filaments sont presque blancs ou légèrement jaunâtres. Ici encore le protoplasma s'est fréquemment coloré en vert ou en vert brun comme sur la gélatine et s'est quelque peu contracté, mais moins et moins fréquemment. Bien des cellules sont irrégulières, inégales, renflées çà et là, à double contour ordinairement bien net ; paroi réfringente et brillante, protoplasma plus foncé, grisâtre ou gris jaunâtre, accompagné de nombreuses gouttelettes huileuses. Les filaments sont ramifiés, terminés en pointe assez aiguë. En somme, mycélium stérile, peu ou pas cutinisé, végétant mal, et n'ayant pas pris de forme de résistance (Pl. III, fig. 8). Il faut remarquer que le développement dans ce milieu a été très faible, mais que la vitalité est pourtant assez grande, car le semis de contrôle a donné l'espèce après plus de six mois.

Le *gaïacol* fournit encore une végétation stérile, mais toute spéciale : la spore initiale germe en donnant un mycélium contourné, très gros, à cellules volumineuses tantôt arrondies, tantôt allongées, toujours épaisses, fortement

granuleuses, inégalement et en général peu cutinisées. Un autre mycélium tout différent, fin, à longues cellules très régulièrement cylindriques, abonde aussi dans la préparation; il fait suite au premier dont il n'est que la ramification, mais le passage de l'un à l'autre est brusque (Pl. III, fig. 13).

Généralement la spore d'origine se distingue par sa cutinisation plus accentuée : elle est fortement gonflée.

2. — APPAREIL CONIDIEN.

Les variations de cet appareil dans ou sur les divers milieux peuvent porter :

Sur la disposition des spores sur les filaments;

Sur les passages de l'article mycélien à la conidie;

Sur les caractères des conidies elles-mêmes.

a. — **Inflorescence.** — *Disposition normale.* — La disposition normale des spores a été souvent décrite. On admet que l'inflorescence caractérise les deux formes principales, *Cladosporium* et *Hormodendron*. Dans la première, il se formerait des étages successifs de conidies, qui elles-mêmes en produisent d'autres : on a ainsi des conidies de 1er, 2e, 3e ordre, et même (s'il s'agit de la variété dite *naine*, plus prolifique) de 4e et 5e ordre. Entre ces étages de conidies, le conidiophore s'allonge beaucoup. Dans la deuxième, la formation de chapelets conidiens très abondants épuise la plante qui s'allonge peu, mais prend un aspect pénicilloïde ou plus exactement hormodendroïde.

Le développement des chapelets de spores est, comme on le sait, centrifuge, la spore la plus ancienne étant la plus rapprochée de l'axe; en outre, la conidie formée passe insensiblement à l'article mycélien; enfin la spore mûre, c'est-à-dire celle de la base du chapelet, et l'article mycélien lui-même, se détachent très facilement du support. Ces trois caractères sont importants à rappeler ici, car ils expliquent la variété d'aspect des préparations.

Les articles mycéliens qui se séparent ainsi spontanément ou au moindre contact sont très variables. Quelques-uns, vrais fragments mycéliens, cylindriques, assez longs, parfois brisés, n'ont évidemment que la valeur d'une forme de mycélium résistant. D'autres, plus courts, appartiennent déjà à la région sporifère du rameau, aux branches de l'*Hormodendron cladosporioides*. Mais ces branches elles-mêmes sont loin d'être semblables : tantôt, comme chez un vrai *Penicillium*, des articles plus ou moins cylindriques se suivent simplement sur les rameaux; tantôt chaque article est renflé en son milieu, atténué à ses extrémités et très faiblement articulé avec ses voisins. Les articles de cet *Hormodendron* vont en diminuant de longueur de la base au sommet de l'inflorescence (fig. 39). S'ils gardent en même temps leur diamètre, ils arrivent à la vraie spore, et dans le liquide où flottent les corps reproducteurs détachés on trouve absolument tous les passages (fig. 36, p. 133).

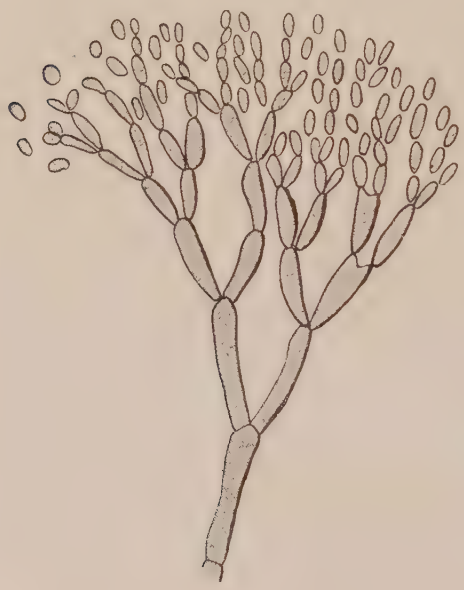

Fig. 39. — *Hormodendron cladosporioides.*

Toutes ces formes, depuis l'article cylindrique jusqu'à la spore sphérique, sont toujours limitées par un double contour très net. La couleur est brune, généralement assez claire, foncée en masse.

Des différences peu importantes se montrent sur des milieux voisins; sur les fragments de carottes, le mycélium forme des filaments sporifères plus longs que sur la

pomme de terre, et donne des séries de spores plus régulières, plus arrondies, très souvent tout à fait sphériques. Bien que les formes ovoïdes ou allongées abondent aussi sur les fragments de bois blanc, l'*Hormodendron cladosporioides* y est encore très caractérisé : les branches sont plus serrées, quelquefois même plus verticillées, et les chaînettes très nombreuses ; mais, en somme, c'est la même forme. Ici encore prédominance manifeste des spores sphériques.

Spores immergées dans les milieux chimiques. — La disposition normale ci-dessus décrite se rencontre surtout sur les milieux solides ou dans les végétations de surface. Dans les conditions spéciales où je me suis placé, la variabilité va plus loin. Le plus souvent, il est vrai, les spores terminent les rameaux en formant un chapelet plus ou moins long; mais quelquefois elles se rapprochent en un bouquet serré autour du filament mycélien ou vers l'extrémité d'un court rameau, ou encore s'espacent un peu, et forment alors une courte grappe ou plutôt une sorte d'épi, à éléments sessiles mais bien séparés. Enfin, les conidies peuvent être quelquefois portées isolément sur les filaments à des distances très inégales. On en verra de fréquents exemples dans les formes submergées, car l'immersion joue ici un rôle considérable. (Pl. III, fig. 4 et 5).

Les filaments sporifères ainsi disposés ressemblent souvent à des *Sporotrichum*.

Les spores isolées sont toujours ovoïdes, à grosse extrémité distale ordinairement; insérées, comme les chapelets, vers l'extrémité d'un article mycélien ; d'abord incolores, puis rapidement cutinisées, mais faiblement, comme le mycélium lui-même. Les eaux distillées nous en offrent de très nombreux exemples (oranger, roses, tilleul, mélisse, etc.). Par exception, je n'en ai pas trouvé dans l'eau de menthe, sans que j'aie d'explication plausible à donner de ce fait. Ces spores peuvent être assez nombreuses sur les filaments, mais jamais elles n'offrent l'aspect du *Dema-*

tium pullulans que l'on rapporte souvent à cette espèce (1).

Les termes de passage entre ces spores isolées, en bouquet ou terminales, sont nettement marquées dans la culture dans l'*arséniate de sodium*. Les filaments portent des conidies latérales brunes (les blanches sont rares, la cutinisation se faisant très vite), tantôt isolées, tantôt et plus souvent groupées ou rapprochées en faux verticilles ou en petit épi latéral. Cette préparation montre aussi très bien les débuts de germination dans le liquide de la culture. En même temps, on trouve les filaments bien typiques de *Cladosporium*, mais sans forme hormodendron (fig. 40).

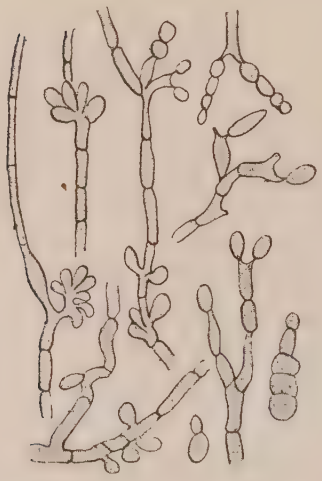

Fig. 40. — Spores immergées. Végétation dans l'arséniate de sodium.

On trouve aussi quelquefois des exemples très caractérisés de prolongements du mycélium au delà de la série des conidies. La culture dans le *glycérophosphate disodique* montre bien cette disposition. Les spores, avec leur forme différenciée, avec leurs caractères non douteux de conidies, prennent ici la valeur morphologique de cellules mycéliennes, se ramifient ou se prolongent en mycélium ordinaire. S'il était besoin de démontrer que les conidies sont des articles mycéliens modifiés, cette culture pourrait servir d'exemple (fig. 41).

Les deux formes principales peuvent coexister dans un

(1) Il se peut cependant que ces conidies non encore cutinisées aient donné l'illusion qu'on avait affaire au *Dematium pullulans*, bien que l'opinion de Laurent me paraisse explicable pour d'autres raisons développées plus loin. Je ferai seulement remarquer que ces conidies se cutinisent rapidement, ce que ne font pas les formes-levures de *Dematium*, et que jamais elles ne végètent en levure. Dans aucune condition, je n'ai obtenu le *Dematium pullulans* en partant du *Cladosporium*. Ces deux plantes sont à mon avis deux espèces bien distinctes.

même milieu. Ainsi la plupart des eaux distillées (sauf la cannelle, toujours à part, et la menthe) les présentent toutes deux et ordinairement à l'exclusion de l'*Hormodendron cladosporioides*, tandis que celui-ci est souvent seul sur les milieux solides. La coexistence des formes en *Hormodendron* et en bouquets ou en spores isolées est assez rare; elle existe toutefois (eau de fleur d'oranger, soude, glycérophosphate, arséniate de sodium, gomme, etc.). L'*Hormodendron* se rencontre presque toujours au contraire avec la forme *Cladosporium* ordinaire.

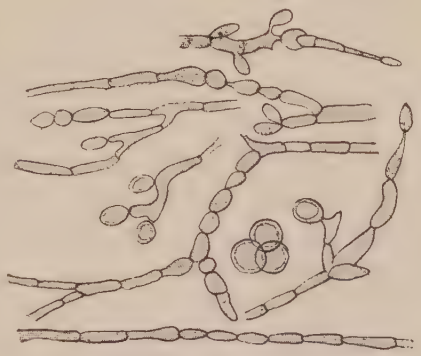

Fig. 41. — Végétation dans le glycérophosphate disodique. Spores intercalaires.

b. — **Passage de l'article mycélien à la conidie.** — Les passages entre l'article mycélien et la spore formée et différenciée sont, a-t-il été dit, si nombreux que la distinction devient impossible. L'étude de quelques milieux de culture est intéressante à cet égard.

Soude. — Contrairement à beaucoup d'autres espèces, le *Cladosporium* se développe dans la solution de soude caustique à 1 p. 100. Dans ce liquide se montrent lentement de nombreux points noirs, entourés d'un léger mycélium, abondant surtout vers le fond du tube. Certains de ces points de végétation adhèrent aux parois du verre, d'autres végètent au-dessus du niveau du liquide. Le mycélium prend une forme spéciale à gros articles, souvent aussi larges que longs, avec des ramifications pénicilloïdes plus ou moins nettes, et des spores en chapelets, petites, souvent ovoïdes. Certains filaments paraissent se diviser en grosses spores arrondies qui ne sont autre chose que des articles mycéliens renflés. La cellule mycélienne tantôt s'arrondit avec tendance à se dissocier, tantôt

s'atténue aux extrémités pour prendre la forme ovoïde ou allongée ; les articles fusiformes eux-mêmes diminuent peu à peu de volume et s'arrondissent en chapelets de vraies spores, légèrement hispides dans ce milieu spécial. J'ajoute qu'il existe aussi des ramifications d'*Hormodendron* à longs chapelets au bout de filaments cylindriques normaux (Pl. III, fig. 9). Dans le liquide, on peut trouver des spores énormes (fragments mycéliens arrondis), et d'autres petites, souvent irrégulières, sphériques ou fusiformes, avec tous les passages. Cela explique la présence dans certains liquides de très grosses spores bien sphériques, rencontrées çà et là.

Dans la solution de *bromure de sodium* au dixième, milieu à développement moyen, le passage de l'article mycélien court à la spore n'est pas moins insaisissable. Une fois bien formées ou détachées, les spores sont volumineuses, à peu près sphériques, plus fortement cutinisées, et disposées en longs chapelets fragiles à l'extrémité de branches qui se dissocient. En somme, c'est encore une fragmentation mycélienne, mais qui se fait à l'extrémité de filaments plus ou moins tortueux, anguleux, rameux, rhizoïdes (Pl. III, fig. 12). Les spores détachées s'accumulent en paquets considérables autour des extrémités de rameaux, et parfois montrent un commencement de germination.

Mais ici la reproduction se fait aussi par spores véritables, par chapelets qui constituent une sorte d'*Hormodendron cladosporioides* au minimum de différenciation. Les extrémités sporifères restent incolores au lieu de se cutiniser. Les branches sont peu nombreuses, très faibles, comme étiolées sur les rameaux plus vigoureux du reste de la végétation. Enfin les spores elles-mêmes sont toujours très petites, ovoïdes, incolores, en contraste frappant avec les fragments mycéliens sporiformes, plus grands et plus colorés, comme l'ensemble du champignon.

Acétate de sodium. — Certaines végétations voient le mycélium diminuer de plus en plus, et les spores en chapelet deve-

nir au contraire abondantes en proportion inverse. C'est le cas pour l'acétate de sodium, par exemple, qui offre, comme on l'a vu, la curieuse propriété de rendre la plupart des végétations moniliformes. Ici on ne voit presque pas de mycélium cylindrique vrai, mais de nombreux filaments, les uns cutinisés, les autres incolores, formés de spores arrondies, ovoïdes ou pyriformes, véritables chapelets à accroissement centrifuge dont les articles sont prêts à se détacher. Ces chapelets simples, sans ramifications, diffèrent complètement non seulement de l'inflorescence de l'*Hormodendron*, mais encore de celle moins régulière du *Cladosporium* typique. Les spores non cutinisées sont allongées ou pyriformes à petite extrémité distale. Les spores colorées sont d'ordinaire sphériques et dérivent des premières, bien que le filament porteur soit d'ordinaire incolore (fig. 42).

Fig. 42. — Végétation dans l'acétate de sodium. Passage du mycélium aux spores.

Évidemment ce sont là des conidies : c'est un *Cladosporium* dont les filaments se terminent par une série simple de spores. Mais les caractères du *Cladosporium herbarum* arrivent à manquer à peu près tous, et les appareils végétatif et sporifère finissent par se confondre. Au semis de contrôle sur pomme de terre, cette forme a comme les autres donné le *Cladosporium* typique.

Dans les milieux très favorables, les spores semblent se différencier plus nettement. Dans le *glycérophosphate monosodique* par exemple (fig. 43), les chapelets sont d'une grande netteté. Quelquefois même les spores qui les composent sont portées sur un tout petit pédoncule. Elles varient de forme, il est vrai (pyriformes, ovoïdes ou sphériques), mais la forme sphérique domine de beaucoup. La trace de l'in-

sertion se voit toujours bien. Les dimensions de ces spores ne varient que dans une faible mesure, les inflorescences sont plus nettement dessinées et les formes de passage sont rares. En outre, les spores à peine séparées ont une tendance à germer. L'exospore chitineuse éclate, un commencement de germination se produit : une petite saillie blanche se montre dans la fente et en sépare de plus en plus les lèvres. Ce n'est pas là du tout le phénomène de sortie de la cellule constaté dans d'autres espèces; en effet, le contenu pousse en un tube court, quelquefois même s'allonge en quelques cellules (assez rarement), mais ne se sépare pas de la coque, et ne se retrouve pas dans le liquide sous forme de sphères blanches. C'est une véritable germination, mais qui d'ordinaire ne va pas loin.

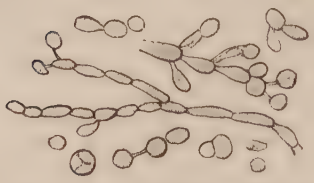

Fig. 43. — Végétation dans le glycérophosphate monosodique.

Au total, et sans tenir compte des termes de passage, l'espèce forme, sur le même milieu ou sur des milieux différents, deux ordres de conidies :

1° *Terminales* : en chapelets; presque toujours cutinisées fortement, allongées ou arrondies, passant au mycélium fragmenté. C'est le type ordinaire caractéristique du *Cladosporium herbarum* et de l'*Hormodendron* ;

2° *Latérales* : ordinairement isolées, quelquefois par 2 ou 3, rarement en série, de forme ovoïde, légèrement renflées à l'extrémité distale, peu cutinisées, séparées et espacées, ou serrées en épi, ou même en bouquet (épi à axe court). Cette forme, beaucoup plus adhérente que la première, ne se détache ordinairement pas des rameaux, tandis que les chapelets de conidies sphériques se désagrègent et que les spores nagent abondamment dans le liquide ambiant.

Une troisième disposition intéressante peut se présenter, mais comme un cas particulier de la seconde : exception-

nellement, les conidies sont intercalaires. Dans le glycérophosphate disodique, bon milieu pour cette espèce, le mycélium se développe en gros filaments à cellules courtes d'où partent des ramifications plus fines à longs articles cylindriques. Sur ces derniers naissent de nombreuses conidies isolées et ovoïdes, ou en série, de dimensions inégales et avec des formes de transition, et le mycélium se prolonge souvent au delà de ces conidies (fig. 41, p. 147).

Les spores latérales sont portées ordinairement sur des filaments plus coudés, plus minces et moins cutinisés que la forme ordinaire. Des passages entre ces deux types peuvent exister, mais le plus souvent la distinction est facile.

c. — **Variation des conidies.** — D'après tout ce qui précède, l'on comprend que l'aspect des préparations du *Cladosporium* doive le plus souvent présenter une grande variété. Les conidies détachées, tantôt isolément, tantôt en courtes chaînettes inégalement mûres, modifiées par le milieu et présentant tous les passages aux articles du thalle, semblent parfois appartenir à des champignons différents, tant elles varient de forme, de dimensions, de couleur et d'aspect.

α. — *Forme.* — Les conidies du *Cladosporium herbarum* sont dites partout ovoïdes : c'est en effet le cas ordinaire; mais cette forme est très variable en réalité, et cette variabilité est un des caractères de l'espèce. Au moment de leur formation, elles sont d'ordinaire arrondies et peuvent conserver cet aspect, ou au contraire s'allonger avant de se cutiniser, devenir alors ovoïdes ovales, fusiformes ou s'atténuer aux extrémités, la partie moyenne restant plus ou moins cylindrique. En général, dans les ramifications, elles sont d'autant plus allongées qu'on se rapproche plus de la base. Même dans les formes sphériques, bien plus fréquentes qu'on ne dit d'ordinaire, un petit point à chaque pôle indique l'attache de la spore précédente ou suivante, dans le chapelet. On a cherché quelquefois à séparer spécifiquement ou tout au moins à distinguer des races dans cette espèce d'après la forme des spores. Ce que je puis dire, c'est

que cette forme s'est montrée essentiellement variable dans mes cultures : or, celles-ci proviennent toutes d'un point de départ unique. La variation se rencontre, ai-je dit, sur le même rameau, mais dans certains milieux la prédominance d'un type s'accentue nettement. Ainsi dans le bromure de sodium les spores sont à peu près toutes sphériques.

Les fragments mycéliens sont en bâtonnets de toutes dimensions, qui se séparent aussi et se répandent dans le liquide. Ces bâtonnets, quelquefois très longs, jouent le rôle de spores, celles-ci n'étant en définitive qu'une forme perfectionnée et régulière de cette fragmentation. Ils peuvent être le point de départ de filaments nouveaux et germer en cellule. Cependant, ce mycélium fragmenté n'existe jamais seul : des spores plus ou moins bien formées l'accompagnent toujours, tandis que la réciproque n'est pas vraie. La diversité obtenue en semant ainsi une spore unique ne signifie point d'ailleurs qu'il n'y ait pas pour cette plante des variétés ; d'après de Janczewski (1), *elles se reproduisent fidèlement par les conidies* ; mais ce ne sont certainement pas là de vraies races, ainsi que l'auteur le dit lui-même, car « *on les a obtenues toutes en semant des sclérotes développés dans les tissus de nos céréales et souvent formés sur le même mycélium* ». Je suis parti, non du même sclérote, mais de la même moisissure, et toutes les variétés ici décrites proviennent en somme d'une seule spore.

La sphéricité est plus ou moins parfaite. Dans quelques cultures, certaines chaînettes ressemblaient à des *Aspergillus* (eau glycérinée).

β. — *Dimensions*. — La difficulté de tracer exactement la limite entre une spore allongée et un article mycélien court empêche de donner les dimensions maxima de ces éléments. D'ailleurs, les auteurs qui distinguent les variétés admettent à cet égard une différence allant du simple au double : de Janczewski indique 25 μ sur 10

(1) De Janczewski, *loc. cit.*

dans les variétés géantes et la moitié dans la variété naine.

Les spores sphériques (ou à peu près) ont dans mes cultures de 4 à 5 μ en moyenne. Les spores allongées ont varié surtout de longueur : 5 à 7 μ d'épaisseur sur 6 à 9 μ de long.

Mais dans les cultures où les passages abondent, les spores, même différenciées, sont très variées de dimensions (fig. 44) ; il en est de fort petites (3 μ), de très grosses (10μ), sans parler bien entendu de l'article fusiforme caractérisé qui atteint souvent 8 μ sur 15, ni de l'article mycélien, toujours beaucoup plus étroit, beaucoup plus long, et souvent pluricellulaire.

La taille peut être modifiée aussi par la tendance à

Fig. 44. — Végétation dans le chlorure de sodium. — *Hormodendron* et formes de passage. Spores de dimensions variées.

germer. Dans l'eau distillée de menthe, par exemple, la plupart des spores sont sphériques, surtout les plus grosses, dont le diamètre est souvent doublé. Celles-ci sont des conidies détachées qui ont grossi sur place, soit en courtes chaînettes, soit le plus souvent isolément. Leur augmentation de volume peut être attribuée à une tendance à la germination, car, d'une façon générale, les spores qui vont germer : 1° grossissent ; 2° tendent à devenir sphéri-

ques ; 3° ont une couleur plus claire ; 4° fendillent leur cuticule ou la rompent sur un point et laissent apercevoir une région blanche sous-jacente. Or, tous ces caractères se retrouvent ici.

γ. — *Surface.* — La surface des spores (et d'ailleurs aussi celle du mycélium) est le plus souvent lisse, mais avec l'âge, et sans doute aussi dans certains milieux, elle peut paraître légèrement échinulée (cultures très anciennes, avec forte cutinisation). L'eau glycérinée, l'eau distillée, la mannite en offrent des exemples. Parfois certaines parties d'une préparation présentent seules cet aspect. Mais ce n'est là, semble-t-il, qu'une apparence due à de fines parcelles de la cuticule fendillée et soulevée.

δ. — *Couleur.* — La couleur des spores est le plus souvent celle du mycélium lui-même et varie du brun clair au brun verdâtre-olive, et au brun rouge. Teinte générale ordinairement peu foncée. Jeunes, les spores sont incolores. Lorsqu'elles vont germer, elles pâlissent.

ε. — *Cloisons.* — Ces conidies sont normalement simples. Mais lorsqu'elles s'allongent elles peuvent se cloisonner et former ainsi deux ou plusieurs cellules, qui restent toujours unies au moment de la séparation des spores et ne présentent pas entre elles d'étranglement. Dans le type étudié ici, les spores pluricellulaires, sans être rares, sont l'exception : deux ou trois cellules tout au plus, germant chacune en un tube identique ; quelquefois un seul tube de germination pour l'ensemble.

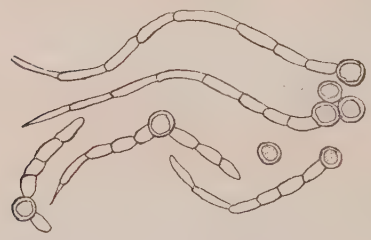

Fig. 45. — Végétation dans le chlorure de baryum. Spores initiales.

ζ. — *Spores initiales.* — Pour terminer ce qui a trait aux spores, il faut ajouter que dans la végétation des solutions on les retrouve parfois à l'origine des filaments qu'elles ont donnés. Elles ont conservé leur forme et seulement augmenté de volume (chlorure de baryum, etc.) (fig. 45). Mais le fait

est loin d'être général et le plus souvent la spore initiale disparaît assez vite dans le développement.

VIII. — ASSIMILATION A D'AUTRES ESPÈCES

On a voulu plus d'une fois identifier spécifiquement le *Cladosporium herbarum*, non seulement avec l'*Hormodendron cladosporioides* qui n'en peut être séparé, mais encore avec d'autres Dématiées. Les cultures pures de cette espèce, faites en milieux variés, permettent d'émettre un avis sur ces rapprochements, et de séparer spécifiquement et même génériquement des champignons considérés d'ordinaire comme de simples formes. Il est certain que la variabilité même des espèces de Dématiées voisines, la malléabilité de leur appareil végétatif et sporifère, la difficulté d'obtenir les périthèces qui seraient un critérium absolu, doit amener souvent à considérer comme identiques des formes végétatives simplement analogues, mais il faut, semble-t-il, se montrer ici plus exigeant, à cause même de ces multiples ressemblances, et ne réunir que les plantes rapprochées par leur fructification, et qui, mises dans des conditions identiques, se comportent identiquement.

J'examinerai seulement ici l'assimilation faite entre le *Cladosporium herbarum* et l'*Hormodendron cladosporioides*, — l'*Alternaria tenuis*, — le *Penicillium glaucum*.

1. — CLADOSPORIUM ET HORMODENDRON

Il n'est pas douteux que ces deux espèces n'en doivent former qu'une. L'*Hormodendron cladosporioides* Sacc. a été décrit par Frésénius (1) sous le nom de *Penicillium cladosporioides* et étudié par Lœw (2), qui le considéra comme une espèce et y rapporta les *P. olivaceum* Corda, *nigrovirens* Fré-

(1) Frésénius, *Beiträge zur Mykologie*, p. 24.
(2) Lœw, *Zur Entwickelungsgeschichte von Penicillium* (Jahrbücher fur Wissensch. Botanik, 1870).

sén., *viride* Frésén., *chlorinum* Frésén. Par la forme des spores, la croissance centrifuge des chapelets, etc., cette plante s'écarte des *Penicillium* et il faut la désigner sous le nom donné par Saccardo, tout en n'en faisant qu'un simple aspect plus conidifère du *Cladosporium*.

C'est Laurent (1) qui, dans son intéressante étude du polymorphisme du *Cladosporium*, a indiqué le premier cette identité. Il a trouvé toutes les formes de transition, et a attribué la différence à une question de nutrition, l'*Hormodendron* ne se montrant que sur des milieux riches. Inversement, il a obtenu le *Cladosporium* par des cultures appropriées en partant de l'*Hormodendron*, résultat acquis également par Massart. Les diverses variétés de cette dernière plante correspondent, pour lui, aux races du *Cladosporium herbarum*, races qu'il indique comme paraissant se maintenir et différant surtout par les dimensions des diverses parties.

Les conditions spéciales où je me suis placé ne me permettent pas de discuter ici cette question des races, car toutes mes cultures ont eu un point de départ unique; mais l'action du milieu s'est fait sentir très profondément et la morphologie a varié dans des limites plus grandes que celles indiquées, assez vaguement d'ailleurs, par les auteurs (race géante, race naine, etc., etc.); en sorte que l'existence de races fixes me paraît assez douteuse. En tout cas, j'ai observé aussi tous les passages du *Cladosporium* à l'*Hormodendron*.

Pour caractériser ces deux formes, on admet que l'axe principal du *Cladosporium* s'allonge beaucoup après la production de conidies peu nombreuses, portées latéralement par étages successifs, en groupes ramifiés. Dans l'*Hormodendron*, au contraire, l'axe principal reste très court; les branches conidifères latérales se ramifient davantage et portent des chapelets de spores beaucoup plus nombreux et

(1) Laurent, *Recherches sur le polymorphisme du Cladosporium herbarum* (Ann. de l'Inst. Pasteur, t. II, p. 558).

plus fournis : c'est donc une question de plus ou de moins. Les auteurs admettent encore une race naine dont les conidies, au lieu de rester de 1er, de 2e, ou au plus de 3e ordre, comme chez le type, arrivent au 5e ordre, sont donc beaucoup plus nombreuses et passent ainsi à l'*Hormodendron* dont les ramifications, plus nombreuses encore, portent des conidies de 10e ordre quelquefois (de Janczewski) (1). Le mycélium est identique dans les deux, et les conidies ne diffèrent pas non plus ; en tout cas, les différences ne sont pas plus grandes qu'entre deux races de *Cladosporium*. On vient de voir combien sur la même plante, sur le même chapelet, la forme et les dimensions sont variables.

En général, l'*Hormodendron* est décrit comme ayant un axe très court et des chapelets de spores très grands. Mais ceci non plus n'a rien d'absolu, et j'ai trouvé des ramifications franchement hormodendroïdes portées sur des filaments de longueur normale.

Tous les auteurs, en étudiant cette espèce, se sont rapprochés autant que faire s'est pu des conditions de la nature et ont cultivé la plante en saprophyte ou en parasite. Au contraire, dans les cultures dont il est ici question, l'espèce végétant en surface et en profondeur dans des liquides variés a fourni non seulement les types extrêmes, mais quantité de formes intermédiaires, et dans bien des cas il serait tout à fait impossible de décider de quel type, *Cladosporium* ou *Hormodendron*, elle se rapproche surtout.

Mais il y a plus :

Berlese a fait sur ce point des observations très intéressantes : il conclut que la véritable espèce type est l'*Hormodendron cladosporioides*, conclusions que j'accepte d'autant plus volontiers que j'y étais arrivé de mon côté avant d'avoir lu l'important mémoire de ce savant. Berlese est frappé des faits suivants :

(1) De Janczewski, *Recherches sur le Cladosporium herbarum et ses compagnons habituels sur les céréales* (Acad. des Sc. de Cracovie, 1894).

Les conidies de l'*Hormodendron* et celles du *Cladosporium* sont identiques.

Les conidies se détachent avec la plus grande facilité.

Les hyphes sont identiques aussi dans les deux espèces.

Les conidies détachées dans les préparations du *Cladosporium* sont extrêmement variées de forme.

A tous ces faits très nets, il faut ajouter que j'ai rencontré dans les préparations tous les termes de passage entre les deux types.

L'*Hormodendron cladosporioides* n'est donc probablement pas une forme spéciale développée en milieu riche, ainsi qu'on le dit d'ordinaire depuis les expériences et observations de Laurent, et dans laquelle la partie végétative est restée courte, tandis que les chapelets de spores devenaient très abondants : c'est, comme le pense Berlese, le type normal du champignon. Grâce au vent, aux légers contacts, ou au cours de la préparation, les chapelets conidiens se détachent : ce sont naturellement les conidies les plus mûres, c'est-à-dire celles de la base, qui se séparent les premières ; le liquide contient donc des spores de toutes les grandeurs, et dont beaucoup refusent de germer parce qu'elles sont trop jeunes. Dans la nature, les filaments mycéliens apparaissent à peu près dépouillés de leurs chapelets, et l'aspect considéré comme normal chez le *Cladosporium* apparaît.

2. — CLADOSPORIUM ET ALTERNARIA

L'histoire des rapports entre le *Cladosporium herbarum* et l'*Alternaria tenuis* peut être rapidement résumée.

Tulasne (1) rattachait ces deux formes conidiennes au *Pleospora herbarum*, en même temps d'ailleurs que le *Marosporium Sarcinula* et qu'un autre appareil reproducteur donnant des stylospores.

(1) Tulasne, *Selecta fungorum carpologia.*

Les recherches de Gibelli et Griffini (1) (1873) séparent ces plantes ; ces auteurs admettent deux *Pleospora* : l'un ayant comme forme conidienne un *Alternaria* (*P. Alternariæ*), l'autre ayant comme forme conidienne un *Macrosporium* (*P. Sarcinula*) qui donne des pycnides. Ils n'ont pu en obtenir le *Cladosporium*. Les auteurs qui ont ensuite étudié la question des *Alternaria* [Bauke (2), Kohl (3), Mattirolo (4)] ne paraissent pas rattacher le *Cladosporium* aux *Alternaria*.

Laurent (5), dans son étude sur le *Cladosporium*, ne le réunit qu'à l'*Hormodendron cladosporioides* et au *Dematium pullulans*.

Costantin (6) a repris ces recherches et a étudié l'*Alternaria tenuis* et le *Cladosporium*.

Il remarque que certains dessins de Tulasne paraissent offrir des ressemblances avec l'aspect que prend parfois le *Cladosporium*. Il rappelle que si Bauke et Kohl admettent qu'un *Alternaria* se reproduit toujours sans variations, Mattirolo, au contraire, pense que dans des conditions défavorables, l'*Alternaria* peut produire des spores qui diminuent de volume jusqu'à simuler un *Cladosporium* (ce n'est donc, d'après Mattirolo, qu'une apparence).

Costantin a cultivé l'*Alternaria tenuis* sur divers milieux, en prenant toutes les précautions nécessaires contre les impuretés. Sur gélose et bouillon de veau neutre, il a obtenu des passages vers une forme présentant les caractères du *Cladosporium*. L'appareil reproducteur dégénère peu à peu, la première spore de la série tend à se confondre avec les articles supérieurs du filament fructifère, augmentant la

(1) Gibelli et Griffini, *Sul polimorfismo della Pleospora herbarum* (Arch. del lab. di bot. crittog. in Pavia, t. I).

(2) Bauke, *loc. cit.*

(3) Kohl, *Ueber Polymorphismus von Pleospora herbarum* (Bot. Centralbl., 1883).

(4) Mattirolo, *Sul polimorfismo della Pleospora herbarum*, etc... (Malpighia, 1888).

(5) Laurent, *loc. cit.*

(6) Costantin, *Sur les variations des Alternaria et des Cladosporium* (Rev. gén. de Bot., t. I).

partie stérile du champignon, aux dépens de l'autre, comme cela est constant chez le *Cladosporium*. Ces spores, sur certains points, finissent par être uni- ou bicellulaires, en tout cas à cloisons parallèles, bien plus petites que la forme typique de l'*Alternaria*.

Dans l'étude d'un champignon spontanément développé sur acide picrique, il observe des variations analogues. Des *Alternaria* se trouvent à la périphérie de la culture, des formes intermédiaires venant ensuite ; sur quelques points du mycélium se forme alors un tubercule qui grossit, donne des filaments dressés, incolores, puis colorés, avec, à l'extrémité, de petites spores uni- ou bicellulaires dont la ressemblance paraît frappante avec celles du *Cladosporium* ; enfin, vers le centre se dressent des *Cladosporium* d'aspect un peu spécial et dont les spores semées ont donné des formes plus caractéristiques, sur la nature desquelles il n'y a pas, dit l'auteur, à hésiter.

En cultivant et en étudiant une forme de *Cladosporium* recueillie sur un fruit de Cucurbitacée, Costantin a encore observé des chapelets de spores 1-2-3-cellulaires, et, à la base des tubercules, des cellules renflées rappelant un peu les spores des *Alternaria* ; or, il en a obtenu l'*Hormodendron* (c'est-à-dire le *Cladosporium*) : c'est donc bien du *Cladosporium* qu'il s'agit.

En somme, Costantin a observé et obtenu en cultivant l'*Alternaria tenuis* des formes *cladosporioïdes*, en cultivant le *Cladosporium* des formes *alternarioïdes*, et semble admettre entre les deux les rapports les plus étroits.

Sans doute, les diverses Dématiées dont je m'occupe dans cette étude ont entre elles des ressemblances et des affinités. L'appareil végétatif de ces diverses espèces, et, on peut le dire, des Dématiées en général, a des caractères communs, et la distinction, d'après le seul mycélium, apparaît comme tout à fait impossible, surtout si l'on cultive ces plantes sur des milieux spéciaux qui en modifient souvent les caractères, et qui les rapprochent parfois, par des phénomènes de

convergence. Aussi rencontre-t-on fréquemment des formes qui tendent vers une autre. J'ai montré à propos de la première espèce, par exemple, qu'on trouvait chez elle des formes macrosporioïdes, alternarioïdes, cladosporioïdes; cet aspect cladosporioïde, je l'ai rencontré un peu partout, et avec des caractères très analogues. Les végétations souffreteuses que l'on obtient dans des milieux artificiels, même nutritifs, modifient en effet la forme, la couleur, la disposition du filament jusqu'à les rendre méconnaissables. Dans ces conditions, pour admettre le passage d'une espèce à une autre, il semble nécessaire que l'on ait obtenu nettement le type de l'une en partant de la forme typique de l'autre. Que par exemple, en semant, dans l'espèce, des conidies d'un *Cladosporium* bien caractérisé, et après en avoir obtenu les végétations dégénérées ci-dessus indiquées, on ait pu, en cultivant ces formes de dégénérescence sur un milieu bien favorable à l'*Alternaria*, observer les files de spores caractéristiques de ce dernier.

Je n'ai, pour ma part, rien vu de pareil. Sans doute, en partant des deux types conidiens, j'ai obtenu par régression ou tout autrement des formes dégénérées qui se ressemblent; sans doute il existe des dégradations, des diminutions de la puissance reproductrice : le nombre, les dimensions, les cloisons des spores d'*Alternaria*, par exemple, se modifient ; ces spores tendent à passer au filament mycélien; la partie stérile augmente, un aspect *cladosporioïde* se montre alors, mais je n'ai vu nulle part un vrai *Cladosporium* avec ses caractères, l'insertion spéciale de ses spores, son mode de ramification et son développement sur certains milieux. Costantin a obtenu dans une culture l'*Hormodendron cladosporioides* ; mais il était parti, d'après sa propre observation, non de l'*Alternaria*, mais d'un *Cladosporium* dont les tubercules offraient à la base certaines cellules renflées, « *rappelant un peu les spores d'Alternaria* ».

Reste l'hypothèse, toujours possible, que, comme le pense Berlese, le *Cladosporium* est une forme de conver-

gence de plusieurs espèces, et que les divers observateurs ont cultivé des choses distinctes.

Ces observations, fort intéressantes d'ailleurs, montrent une fois de plus combien ces champignons sont voisins, et combien il est difficile de distinguer les unes des autres leurs formes dégénérées et presque stériles.

Mais la distinction spécifique paraîtra nécessaire si l'on compare entre elles les cultures dont il a été question depuis le commencement de cette étude. En effet, s'il est vrai que deux formes bien distinctes, d'une même espèce, cultivées sur un même milieu, donnent parfois au début des végétations différentes, il est vrai aussi que des cultures successives les modifient peu à peu : chaque milieu étant plus favorable à l'une des deux formes, la plante finit par prendre, quelle qu'en soit l'origine primitive, les caractères normaux qu'elle doit avoir sur ce milieu donné.

En d'autres termes, si le *Cladosporium* et l'*Alternaria* sont deux simples formes, et si on les sème tous deux sur un milieu où le premier prend normalement son aspect typique, le *Cladosporium* s'y maintiendra avec ses caractères et l'*Alternaria* (sinon tout de suite, du moins au bout d'un certain nombre de générations) y deviendra un *Cladosporium*. En prenant une série de milieux parfaitement identiques, et en y semant ces deux formes typiques dans des conditions identiques aussi, on doit voir les deux cultures parallèles se ressembler et même se confondre souvent.

Or, c'est précisément ce qui n'a pas lieu.

J'ai cultivé, comme on l'a vu, dans les mêmes conditions, deux espèces d'*Alternaria* et le *Cladosporium herbarum*, et je ne puis ici répéter, même en résumé, les résultats donnés ci-dessus. Mais il suffira de les comparer pour voir qu'aucun rapprochement ne se fait. Les végétations stériles, les parties purement végétatives se ressemblent parfois, mais jamais on n'a trouvé un seul *passage* véritable.

Je ne suis d'ailleurs et ne puis être affirmatif que pour les espèces étudiées.

3. — HORMODENDRON ET PENICILLIUM

Dans ses recherches sur le *Penicillium glaucum*, M. Guéguen décrit un *Hormodendron* qu'il a trouvé très fréquemment associé au *Penicillium* pour former les *Hygrocrocis*. Ces *Hormodendron*, dit l'auteur dans ses conclusions « ne sont peut-être que des états évolutifs du *Penicillium glaucum*. Nous n'avons pu, il est vrai, observer d'une manière constante et irréfutable la continuité de ces deux organismes; mais nous avons obtenu des formes de passage de l'un à l'autre. Notre insuccès n'étonnera point ceux qui savent combien sont capricieux ces organismes inférieurs d'un polymorphisme si déconcertant ».

Je pense que M. Guéguen a obtenu et cultivé l'*Hormodendron cladosporioides*, si commun dans les solutés, et qui se développe constamment côte à côte avec le *Penicillium*, quand on ensemence sur milieu solide les végétations des flacons de laboratoire. J'ai cultivé aussi de nombreux *Penicillium*, dans les milieux les plus divers, et je n'ai jamais obtenu de forme hormodendroïde. Inversement, le *Cladosporium herbarum*, ni sa forme *Hormodendron*, ne m'ont jamais offert de *Penicillium*. Les descriptions que M. Guéguen donne de son *Hormodendron* dans divers milieux où j'ai moi-même cultivé le *Cladosporium*, et certaines de ses figures, se rapportent bien à l'*Hormodendron cladosporioides*. La culture en cellule que l'auteur représente est identique à celles que j'ai obtenues dans les mêmes conditions, en cultivant le *Cladosporium herbarum*, et les formes intermédiaires dessinées ne me paraissent pas convaincantes; ce sont des ramifications, peut-être un peu anormales, de *Cladosporium* ou d'*Hormodendron* à développement conidien centrifuge, qui seraient réellement intéressantes et probantes si l'auteur les avait obtenues en partant du *Penicillium*, mais qui sont assez normales, étant donné qu'il a semé l'*Hormodendron*. La ramification à trois branches verticillées

de l'une des figures est le seul point qui rappelle le *Penicillium* ; mais c'est une disposition que l'on rencontre parfois, quoique exceptionnellement, chez l'*Hormodendron*.

J'ajouterai que la technique générale exposée par M. Guéguen, au début de son mémoire, ne le met pas à l'abri de la culture simultanée des deux espèces ; les semis étaient faits suivant les règles et sur des milieux stérilisés, mais c'étaient des semis directs, provenant du flacon d'origine, et par conséquent l'on pouvait fort bien semer ensemble les filaments ou les conidies des deux espèces ; cela suffit à expliquer qu'on les ait obtenues simultanément ou successivement sur les cultures. La séparation est souvent fort longue, sinon difficile, et j'ai dû parfois faire jusqu'à huit ou dix cultures successives pour débarrasser tout à fait le *Cladosporium* des spores de *Penicillium* : l'inverse était beaucoup plus facile.

En résumé, l'hypothèse de M. Guéguen, sur laquelle, je m'empresse de le reconnaître, il fait toutes ses réserves, ne saurait être acceptée.

Il résulte de ses expériences que le *Penicillium glaucum* et le *Cladosporium herbarum* sont les deux plus fréquentes parmi les moisissures que l'on confond sous le nom d'*Hygrocrocis*.

IX. — RÉSUMÉ

Le *Cladosporium herbarum* est très fréquent dans les milieux chimiques (p. 116).

Cette plante est peut-être une forme de convergence commune à plusieurs champignons, ce qui expliquerait la différence des résultats obtenus par les auteurs (p. 117).

Le type étudié ici paraît cependant bien caractérisé ; c'est celui dont l'étude a été faite par divers auteurs (p. 119).

La forme *Hormodendron cladosporioides* semble devoir constituer le type même de l'espèce (p. 119).

Le passage insensible de l'article mycélien à la conidie

différenciée est le caractère principal, très net dans la plupart des cultures (p. 119).

La variabilité de l'espèce est d'ailleurs très grande, soit dans la nature, soit dans les cultures artificielles (p. 120).

Le parasitisme est encore discuté (p. 120).

Le nombre actuel des espèces paraît beaucoup trop grand (p. 121).

L'espèce est très sensible aux acides (p. 124).

Sur le milieu-type, elle ne pousse que très lentement, mais elle acquiert ses caractères normaux (p. 132).

Elle s'accommode assez bien de la plupart des milieux non acides (p. 125).

Les végétations varient d'aspect. Très souvent, un petit tubercule noirâtre sert de centre aux ramifications (p. 125).

En effet, les premiers filaments, çà et là renflés, s'enchevêtrent souvent en une sorte de tubercule qui ne devient jamais un vrai sclérote (p. 135).

L'espèce, tout en poussant de préférence à l'air, peut vivre immergée (p. 126).

L'aspect des filaments immergés est d'ordinaire spécial (p. 135).

La germination en cellule sur eau de pomme de terre donne rapidement des spores. Dans la gélatine, on obtient aussi des formations analogues, et bientôt (sur des branches sortant du milieu) des ramifications d'*Hormodendron* (p. 127, 129).

La cutinisation varie beaucoup, et parfois sur le même filament. Elle est souvent assez faible (p. 134).

Les chlamydospores se rencontrent sous divers aspects, mais sont relativement peu fréquentes (p. 137).

Les formes fumagoïdes sont plus rares que dans les autres espèces étudiées, et surtout que dans la suivante (p. 140).

Le mycélium se montre souvent stérile, avec des caractères spéciaux suivant le milieu considéré (p. 141).

L'appareil conidien varie dans les divers milieux, soit par l'inflorescence, soit par les caractères des conidies (p. 143).

Les régions immergées du champignon ont souvent des spores disposées en épis ou en bouquets serrés, ou isolées çà et là (p. 145).

Dans quelques cas, on peut trouver des conidies intercalaires dont la série se continue en un vrai filament mycélien (p. 146).

Le passage de l'article mycélien à la conidie est intéressant à étudier dans quelques milieux, soit que la spore se différencie plus nettement, soit qu'elle se confonde, au contraire, de plus en plus avec le mycélium (p. 147).

Les conidies varient aussi dans les divers milieux, par la forme, par les dimensions, par l'aspect de la surface, par la couleur, par le cloisonnement, etc. (p. 151).

On doit réunir le *Cladosporium herbarum* à l'*Hormodendron cladosporioides* (p. 155).

Il faut le séparer (au moins celui qui a été l'objet de cette étude) des *Alternaria* et du *Dematium pullulans* (p. 158 et 211).

Il est tout à fait distinct des *Penicillium*, que l'on trouve parfois avec lui (p. 163).

DEMATIUM PULLULANS de Bary.

Le *Dematium pullulans* de Bary est très commun dans la nature, à la surface des fruits à épiderme mince, sur les organes divers des plantes malades, plus ou moins mêlé à d'autres espèces, et en particulier au *Cladosporium herbarum*. On le rencontre aussi dans les liquides des laboratoires, où il constitue une des moisissures les plus fréquentes.

I. — HISTORIQUE. — LIMITES DE L'ESPÈCE

Le seul mode de reproduction qu'on lui connaisse bien (conidies formes-levures) ne permet pas de rapporter le *Dematium pullulans* à un type déterminé d'Ascomycète, car des bourgeons de même aspect ont été rencontrés au cours du développement de champignons très divers. Brefeld (1), en particulier, a représenté de ces formes bourgeonnantes chez les *Sphærulina intermixta* Berk. et Br., *Nectria cinnabarina* Tode, *Rosellinia velutina* Fkl., *Dothidea ribesia* Pers., *polyspora* Bref., etc., *Bulgaria inquinans* Pers., etc., en sorte qu'il est encore très difficile de présumer à quel périthèce aboutit l'évolution complète de cette espèce.

Cependant, diverses hypothèses ont été émises. Pasteur (2) assure que les cellules brunes de la surface des fruits sucrés peuvent être rajeunies et faire fermenter le sucre. Mais, ainsi que le fait remarquer Berlese (3), il ne paraît pas

(1) O. Brefeld, *Untersuchungen aus dem Gesammtgebiete der Mykologie*, Heft X (*Ascomyceten*, II), 1891.

(2) Pasteur, *Études sur la bière*.

(3) Berlese, *Première contribution à l'étude de la morphologie et de la biologie de Cladosporium et Dematium* (Bull. de la Soc. mycol. de France, 1895, p. 35 à 74).

avoir séparé de cette espèce les vraies levures qui se trouvent toujours à la surface des fruits. Plus récemment, Cuboni (1) a décrit un *Dematium pullulans* qui amènerait la fermentation par ses cellules saccharomycétiformes. Berlese, qui n'a jamais vu de fermentation se produire dans ces conditions, se demande si, malgré les précautions rigoureuses prises par Cuboni, il n'a pas été semé, en même temps que les formes-levures du *Dematium*, des levures véritables toujours abondantes sur les points où l'auteur a pris ses semences (gouttes de sève de la vigne). Aussi, la parenté admise par Pasteur et par Cuboni du *Dematium* avec les *Saccharomyces* est-elle plus que douteuse. Berlese, sans la nier d'une façon formelle, refuse au *Dematium* la possibilité d'amener la fermentation. C'est aussi le résultat de mes cultures sur les liquides sucrés, qui n'ont jamais montré la moindre bulle gazeuse.

Lœw (2) a fait de cette espèce une étude approfondie, et a obtenu, en cultivant des cellules saccharomycétiformes, des formes bourgeonnantes et des formes à chlamydospores; il en a étudié la germination qui se fait par les deux pôles, le cloisonnement, le bourgeonnement, d'abord sur la cellule mère, puis sur les autres, enfin l'enkystement. En comparant les observations de Lœw et les siennes, Berlese pense qu'il y a là deux espèces distinctes. Il a, lui aussi, étudié dans leurs plus grands détails les phases du bourgeonnement; cependant, la distinction spécifique avec la plante de Lœw ne semble pas évidente, autant qu'on peut en juger d'après deux descriptions. En tout cas, ainsi qu'on le verra plus loin, la germination des formes-levures varie dans d'assez grandes limites, suivant le milieu ; et dans le même liquide on voit, par exemple, les cellules pousser tantôt un seul, tantôt deux tubes mycéliens.

Berlese conclut, des publications faites et de ses propres observations, que le *Dematium pullulans* ne représente

(1) Cuboni, *Sulla probabile origine dei Saccharomiceti*, 1885 (ex Berlese).
(2) Lœw, *Ueber Dematium pullulans* (Pringsheim's Jahrbuch., III).

pas une entité, mais est une forme collective, un état spécial de plusieurs champignons, Sphœriacées ou autres (1). Il croit très possible que, par une adaptation complète au milieu, ces espèces aient perdu la faculté de reproduire les formes d'où elles proviennent, ce qui explique la rareté des modes élevés de reproduction.

L'espèce étudiée par Berlese est, en effet, inapte à donner autre chose que des bourgeons, et s'enkyste dès qu'elle arrive à l'air libre; il en a trouvé d'autres qui lui ont paru un peu différentes, en sorte que, d'après lui, les *Dematium* pourraient bien former un petit groupe isolé comme les Saccharomycètes.

Le fait que la forme bourgeonnante du mycélium est commune à plusieurs champignons n'est pas contestable. La ressemblance très fréquente des formes mycéliennes suffit à expliquer que l'on ait pu décrire sous le nom de *Dematium pullulans* des végétations bourgeonnantes diverses. Mais, de ce qu'il y a ressemblance d'aspect, comme dans les figures de Brefeld, il ne s'ensuit pas forcément que le *Dematium pullulans* n'existe pas, c'est-à-dire qu'une de ses formes [celle sans doute décrite par De Bary (2), Lœw (3), Laurent (4), etc.] ne réponde pas à une espèce particulière de Dematiée bourgeonnante et dépourvue jusqu'ici de forme reproductrice différenciée. En d'autres termes, je puis continuer à donner le nom de *Dematium pullulans* à un champignon dont le mode de reproduction sur certains milieux est absolument identique à celui qu'indiquent et représentent les auteurs qui l'ont étudié. J'aurai tout à l'heure à discuter l'assimilation faite par Laurent du *Dematium pullulans* avec le *Cladosporium herbarum*; or, l'espèce que j'ai eue entre les mains est tout à fait la même que celle de Laurent : cultivée sur gélatine, par exemple, elle

(1) C'est aussi l'avis de Brefeld, *loc. cit.*, p. 267.
(2) De Bary, *Morphologie und Biologie der Pilze.*
(3) Lœw, *loc. cit.*
(4) Laurent, *loc. cit.*

m'a donné des végétations identiques à celle que dessine l'auteur, etc. Je puis donc la considérer comme une forme déterminée, et faire reposer sur elle mon argumentation.

Bien entendu, cela ne signifie pas que d'autres champignons, connus ou non à l'état parfait, ne puissent donner des formes semblables. Zopf (1), par exemple, a montré que les stylospores et les conidies des *fumago*, qu'il a très bien étudiés, peuvent bourgeonner dans les liquides sucrés, et que les microstylospores, si le milieu s'épuise, s'enkystent parfois soit directement, soit après s'être divisées transversalement en deux cellules ou en un court chapelet. Ce sont là des caractères communs avec le *Dematium pullulans*, auxquels j'ajouterai que celui-ci peut avoir des formes tout à fait fumagoïdes. Mais Zopf n'assimile pas pour cela les deux espèces, et les distingue au contraire nettement, malgré la ressemblance.

Je maintiendrai donc le nom de *Dematium pullulans* de Bary pour l'espèce primitivement décrite sous ce nom, qui me paraît être aussi celle étudiée par Lœw et qui est certainement celle dont Laurent fait une forme du *Cladosporium*. C'est encore celle dont parle de Janczewski (2) dans son étude du *Cladosporium*. J'ajoute que les différences de la description de Berlese ne me paraissent pas dépasser celles que j'ai vues dans une même culture, et que mon espèce doit être aussi celle de ce dernier auteur.

Il n'existe pour caractériser ce champignon aucun organe tout à fait typique, puisque les trois modes de reproduction (formation de conidies formes-levures sur filaments — bourgonnement en *levure* de ces conidies — enkystement en *fumago* de diverses parties) ne lui sont pas spéciaux, et se rencontrent tous chez plusieurs plantes voisines. Mais ce qui le caractérise véritablement, lui

(1) Zopf, *Die Conidienfrüchte von Fumago* (Nov. Act. der K. Leop. carol. Deutsch. Akad. d. Naturf. Halle, 1878).

(2) De Janczewski, *Recherches sur le Cladosporium herbarum et sur ses compagnons habituels sur les Céréales* (Acad. des Sc. de Cracovie, 1894).

donne une entité réelle, et permet de le décrire comme espèce en attendant la découverte probable des périthèces, c'est la coexistence, la succession dans des conditions déterminées de ces trois états dont aucun n'est spécifique par lui-même, et qui le deviennent par leur ensemble, les autres plantes ayant l'une ou l'autre de ces formes, mais non les trois ensemble.

La production de conidies et leur multiplication en levures est, dans certains milieux, véritablement prodigieuse, en sorte que le nom de *pullulans* est tout à fait exact, et cela permet aussi de distinguer cette espèce de celles qui produisent simplement çà et là quelques bourgeons conidiens.

On verra plus loin que les modifications morphologiques obtenues sont nombreuses et intéressantes; mais la production abondante de formes-levures est restée le seul mode bien caractérisé de reproduction. Cette espèce pourrait donc être de celles dont Berlese suppose qu'elles ont pu perdre par adaptation la possibilité de revenir au type primitif, aucun des auteurs qui l'ont cultivée n'ayant pu obtenir de fructification, malgré la variété des cultures tentées par eux.

II. — ORIGINE DES CULTURES

L'espèce est fréquente dans les milieux chimiques. Je l'ai trouvée à maintes reprises (chlorure d'ammonium, sulfate de magnésium, carbonate de sodium, lactophosphate de calcium, etc.). Cela indique à la fois son abondance dans l'air ou l'eau des villes, et sa résistance à l'action des milieux, résistance que l'étude du mycélium expliquera très bien.

La forme sous laquelle on obtient l'espèce en semant les végétations de la solution chimique sur le milieu-type est, comme pour l'*Alternaria polymorpha*, une sorte de forme-levure qui produit sur la pomme de terre une tache un peu

cireuse, luisante, d'aspect bactérien, et de couleur crème, café au lait, ou quelquefois très légèrement rosée. Ce champignon a été trouvé mêlé à bien d'autres espèces : *Penicillium glaucum*, *Aspergillus*, *Cladosporium herbarum*, levures rouges, roses et blanches, etc., etc. On voit que le *Cladosporium* est un de ses compagnons ordinaires ; je les ai plusieurs fois rencontrés ensemble, et comme certaines parties de leur mycélium et quelques formes végétatives les rapprochent, on s'explique très bien la confusion établie parfois entre les deux espèces, que des cultures et des semis multipliés peuvent seuls séparer d'une façon définitive.

III. — RÉSISTANCE AU MILIEU

L'espèce s'est montrée très résistante. Le semis de contrôle a reproduit le type sur plus des trois quarts des cultures après huit mois de conservation. Beaucoup d'autres semis se sont développés, mais ont péri à la longue. Dans la plupart des milieux chimiques, la végétation a été moyenne, plutôt faible.

Il est à remarquer que les milieux acides, si défavorables à d'autres espèces, et particulièrement au *Cladosporium herbarum* type, réussissent bien mieux ici : la végétation s'y développe assez bien (acides citrique, sulfurique, etc.), ou même très bien (acides gallique, tartrique, glycérophosphorique). Cette résistance aux acides, déjà remarquée par Laurent, est une des nombreuses différences à noter avec le *Cladosporium*.

La soude à 1 p. 100 entrave, d'après Laurent, le développement de cette espèce dans le moût. Dans mes essais, des doses moindres (en solution pure) ont suffi à empêcher tout développement. Cela n'a d'ailleurs d'intérêt que par comparaison avec le *Cladosporium*, dont les préférences sont absolument inverses.

Toutes les eaux distillées donnent une végétation faible, ainsi que la plupart des milieux chimiques, tandis que

quelques solutions, d'ordinaire peu propices, ont au contraire fourni d'assez bons résultats (arséniate de soude à 1 p. 1000).

IV. — ASPECT GÉNÉRAL DES CULTURES

Le *Dematium pullulans* se présente dans les tubes de culture avec des aspects assez divers. La coloration varie du blanc au noir. Il est très fréquent que la simple multiplication des formes-levures semées produise seulement un dépôt dissocié blanchâtre (acétate de sodium) : ou bien la végétation incolore devient membraneuse (bromure de potassium) ou floconneuse (cocaïne), se mêle de points noirs (arséniate de sodium) ou de petits flocons noirâtres (acide citrique). Il se peut que la végétation colorée se montre seule, soit sous forme d'un dépôt plus ou moins abondant (acides gallique, glycérophosphorique, etc.), soit sous forme de petits points noirs immergés (acide tartrique) ou émergés (acide sulfurique, sucrate de chaux). Mais de tout cela les exemples sont rares, et la forme ordinaire, vigoureuse, sous laquelle se présente l'espèce, est celle de points noirs sur la paroi du tube avec flocons bruns ou gris dans le liquide (lactophosphate de calcium, eau distillée, etc.), ou plus souvent encore d'une membrane noire ou verdâtre, épaisse, végétant à la surface (gomme, glycérophosphates, moût, liquide de Raulin, dextrine, glucose, eau glycérinée, etc., etc.), et coexistant souvent avec des flocons ou un dépôt d'abondance variable. Cette végétation superficielle est fréquemment assez épaisse et assez adhérente pour qu'on puisse renverser le tube de culture sans faire couler le liquide (mannite).

Il est rare que la couleur des solutions soit modifiée.

Berlese a étudié le développement de cette espèce sur le moût de raisin et a vu se former à la surface, par enkystement des cellules, la membrane noirâtre normale dans ces conditions.

D'après ses observations, la végétation est d'abord comme cotonneuse, s'étale à la surface en filaments souvent entortillés et immergés, mais jamais jusqu'au fond : après quoi la surface brunit, forme lentement une croûte résistante et noire par enkystement hors du liquide à mesure que celui-ci s'évapore. Entre les filaments est une gelée qui permet le renversement du tube.

Des coupes dans cette membrane lui ont montré trois zones principales, qui diffèrent par l'abondance variable du mycélium blanc, de la gelée intercellulaire, la désarticulation plus ou moins grande des filaments, etc. Au-dessous on ne trouve plus que du mycélium incolore en flocons. Le brunissement est dû à la privation d'aliments et à l'émersion. La gelée se produit sur les filaments qui n'épaississent pas leur paroi. Elle est aussi en rapport avec la pénurie de matières nutritives, et indique le passage du mycélium à l'état de repos.

Le développement indiqué par Berlese est en effet celui que l'on observe sur les liquides nutritifs, comme le moût, les liquides sucrés, le bouillon, le liquide de Raulin, etc. Mais on vient de voir que ces caractères peuvent varier beaucoup, même comme aspect extérieur.

Il est très exact que la cutinisation est plus abondante et plus forte à la surface : elle est aussi en rapport avec la diminution de la nutrition. Mais il n'y a là rien d'absolu, et les liquides contiennent souvent des filaments immergés plus ou moins colorés et des dépôts de cellules cutinisées (en dehors, bien entendu, des membranes développées à la surface et tombées ensuite au fond).

V. — GERMINATION ET DÉVELOPPEMENT

Cutinisés ou non, enkystés ou minces, colorés ou incolores, chlamydospores ou conidies, les divers éléments sont susceptibles de germer. Berlese, qui a pu, lui aussi, le constater, a décrit minutieusement quelques-unes des

phases du développement et en a conclu, en comparant ses germinations à celles de Lœw et de De Bary, qu'il avait vu une forme différente, répondant à une espèce distincte. Ses observations ont porté sur les éléments cutinisés et sur les formes-levures (*gemmations*), qui sont en somme des conidies. Il montre que si les éléments sont peu ou pas cutinisés la germination se fait par amincissement et décoloration de la membrane et formation directe des filaments : la paroi reste simple. Si, au contraire, l'élément est fortement cutinisé, la cuticule extérieure éclate par le gonflement du protoplasma (et j'ajoute du mucilage sous-jacent), et la cellule apparaît avec sa paroi interne mince et incolore, émettant aussitôt des tubes de germination qui bourgeonnent rapidement. Et cela semble mettre d'accord de Bary, disant que la membrane cellulaire a deux couches, et Lœw, admettant qu'elle n'en a qu'une seule.

Fig. 46. — Germination sur eau de pomme de terre : 1, après trois heures ; — 2, six heures ; — 3, neuf heures ; — 4, douze heures ; — 5, deux jours.

a. — **Germination sur eau de pomme de terre.** — La germination de ces formes-levures ou de ces conidies peut s'observer facilement dans les cultures en cellule sur eau de pomme de terre.

La conidie se gonfle, devient granuleuse, puis aux deux pôles ou à un seul et souvent latéralement se montre un petit bourgeon qui grandit rapidement (fig. 46).

La cellule s'est quelquefois cloisonnée : si le bourgeon ne se sépare pas, le point de contact avec la cellule mère s'élargit; une deuxième cellule se forme à la suite, et bientôt se constitue un petit filament à éléments assez épaissis, et qui, dès le premier jour, commence à bourgeonner latéralement, en donnant des conidies qui se détachent au fur et à mesure de leur formation. Si bien que, dès le deuxième jour, autour du filament ramifié se trouvent des groupes considérables de ces conidies. On conçoit avec quelle rapidité une pareille production épuise un milieu de culture. Berlese dit qu'une génération ne se produit que lorsque l'autre est tombée. Je n'ai pas observé ce fait nettement.

Si au lieu d'une forme-levure c'est une cellule de fumago qui a été semée, les phénomènes sont fort analogues. Les groupes bi- ou tricellulaires germent parfois comme une seule cellule, et donnent un seul tube. Les éléments qui doivent se séparer poussent séparément. La cellule cutinisée se gonfle beaucoup : la couleur brun noir ou brun-chocolat pâlit, devient verdâtre, quelquefois même disparaît presque. Puis, sur un point, généralement à une extrémité, la membrane s'amincit et il apparaît un petit bourgeon, qui dès lors se comporte comme celui de la forme-levure : il est seulement plus gros; le filament qu'il produit est d'abord peu rameux, assez irrégulier quelquefois, rarement droit, mais d'ordinaire se contourne plus ou moins. La formation de conidies est la même que plus haut. Ces conidies sont surtout fournies ici par les premiers articles et les groupes en sont réunis autour du centre de germination. Elles se forment parfois dès que le tube apparaît, et restent très peu de temps attachées aux filaments producteurs.

Aussitôt détachées, ces conidies germent en levure.

En réalité, c'est cette végétation en levure qui est la règle dans les cultures sur pomme de terre.

Au début, et si la substance n'est pas trop acide, aucun filament ne se constitue et chaque bourgeon formé se détache pour en produire à son tour un ou plusieurs autres ; mais, en somme, si l'on examine de près ce phénomène, on y voit seulement un cas particulier de l'accroissement en fila-

Fig. 47. — Forme-levure germant et bourgeonnant.

ments. La forme-levure semée porte d'ordinaire plusieurs bourgeons très diversement placés (fig. 47).

Ce sont, en somme, des *Dematium pullulans* dont les articles se séparent au lieu de former une série, des *Dematium* à filaments unicellulaires, si l'on peut s'exprimer ainsi. La forme, les dimensions, la vie ultérieure des conidies est identique dans les deux cas. Si les bourgeons formés se réduisent à un, ou plus rarement à deux, c'est la végétation ordinaire des levures.

Les conidies sont portées sur les parties latérales des cellules mycéliennes, de préférence vers le sommet, près de l'attache de l'article suivant, mais sans règle absolue. Sur la dernière cellule, si la spore est unique, la conidie est parfois terminale ; s'il y en a deux, elles sont placées le plus souvent de chaque côté du sommet, et très près de lui.

Sur les rameaux, la forme est fréquemment un peu atténuée à l'insertion et la largeur un peu plus grande à l'extrémité distale.

Une fois détachées, les levures sont ordinairement ovales ou plutôt subcylindriques à extrémités arrondies (Pl. IV, fig. 1 et 11).

Les conidies formes-levures se séparent avec une si grande rapidité qu'on les voit rarement en place, même

dans les cultures sur gélatine. On peut suivre au microscope cette séparation.

Le temps que met une forme-levure en milieu nutritif et à la température de 20 à 25° pour apparaître, se former et se détacher, est d'environ une heure (1).

Dans les filaments à développement rapide, les conidies forment des groupes le long des filaments, ou se couchent parallèlement à leur direction. Comme elles sont à leur tour le point de départ d'une multiplication en progression géométrique, il se forme des amas sphériques et allongés, transformant l'ensemble du filament en une sorte de chapelet (culture sur gélatine en cellule) (fig. 50, p. 181). Dans les liquides ordinaires, elles se répandent partout.

La formation sur le mycélium est si rapide que, contrairement à ce que l'on a dit, les levures ont toutes à peu près les mêmes dimensions, tant à la pointe du filament que sur son trajet. Au moment où elles se détachent, elles ont environ 6 à 8 μ sur 3 ou 4. Puis elles se gonflent souvent et deviennent plus ou moins arrondies, quand elles vont germer en levures ou si elles commencent à se colorer.

Bientôt en effet, surtout s'il se produit un commencement de dessiccation, les levures ou les premières cellules des filaments tendent à se cutiniser.

Le phénomène débute fréquemment par une augmentation de volume et par un léger étranglement de la cellule en son milieu; la teinte devient grisâtre, très pâle, puis de plus en plus foncé, un peu verdâtre. La dessiccation relative diminue aussi la végétation en levure, et multiplie la forme filamenteuse grêle. A la fin même, les branches les plus fines deviennent souvent irrégulières et portent des formes-levures mal venues, plus petites et plus arrondies.

Si le liquide reste abondant, les filaments ont, au contraire, une tendance à se dissocier. Au bout de quelques jours, les cellules assez lâchement unies se sé-

(1) C'est le résultat exact auquel est arrivé Berlese de son côté.

parent et continuent d'ailleurs à bourgeonner latéralement, réalisant ainsi la forme de *Dematium unicellulaire* indiquée ci-dessus comme primitive. Les articles et les levures restent plus gros, plus vigoureux : leur double contour se détache nettement, et des granulations protoplasmiques abondantes s'y montrent dès le début.

Sur le tissu émergé de la pomme de terre, les phénomènes sont analogues. Mais certaines formes-levures cessent de bourgeonner au bout de quelques jours, grossissent démesurément, d'abord en conservant leur forme, puis en tendant à devenir sphériques, et constituent des sortes de kystes granuleux, volumineux, qui restent longtemps incolores (fig. 48). Puis la cutinisation se produit, et la pomme de terre noircit. Enfin, la végétation filamenteuse à cellules renflées et diversement cutinisées recouvre complètement la pomme de terre, toujours mêlée d'ailleurs aux diverses formes précédentes. C'est la végétation sur *milieu-type* que je décrirai plus loin.

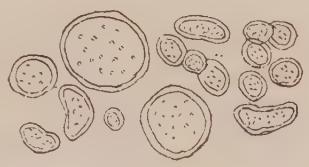

Fig. 48. — Culture sur pomme de terre. Levures grossies et enkystées.

Lorsque la cellule à l'étude est conservée hors de la chambre humide et subit, par conséquent, un commencement de dessiccation, les phénomènes changent. La cutinisation des membranes tend à se faire beaucoup plus rapidement, et au lieu de continuer à végéter en levure, ou en *Dematium pullulans*, les cellules, cutinisées ou non, germent en filaments fins : l'aspect de cette germination est tout différent. Lorsque la cellule pousse en levure, le bourgeon qu'elle forme est renflé, arrondi dès le début comme une petite sphère, ou un petit corps ovalaire, appliqué par un point sur la cellule productrice. Quand celle-ci doit germer en filaments fins, elle se hérisse de petites aspérités cylindriques généralement assez nombreuses qui la déforment et ne se renflent jamais. Certaines cellules des filaments se différencient d'une façon identique (fig. 49). Dans les

conditions de dessiccation relative ci-dessus indiquées, les filaments en question s'allongent beaucoup, mais restent grêles et très irréguliers, présentant sur tout leur trajet

Fig. 49. — Culture sur pomme de terre en cellule. Filaments en voie de dessiccation.

des débuts de ramification qui leur donnent une surface inégale.

Au centre d'une goutte de liquide en cellule, mais hors de la chambre humide, la végétation est en levure et des fumago se produisent lentement, mais sur le bord de la gouttelette s'allongent des filaments fins et irréguliers. Si l'on remet cette préparation dans la chambre humide, on voit souvent ces filaments se dissocier en cellules isolées qui végètent dès lors en levure.

Pendant ce temps, des éléments identiques conservés dans la chambre humide continuent à végéter en levure, et donnent seulement quelques rares filaments dont les cellules initiales offrent un double contour, mais ne sont pas encore nettement cutinisées. En tout cas, la cutinisation est beaucoup plus lente, comme sur le tissu même de la pomme de terre.

En somme, les variations portent surtout sur la cutinisation plus ou moins rapide et sur la production de filaments. Il est certain que la question de l'humidité est ici prépondérante.

b. — **Germination sur gélatine nutritive.** — Les cultures en cellule sur gélatine nutritive poussent avec une très grande rapidité. Les formes-levures germent en longs filaments sur lesquels on voit, dès le début, se former de petites conidies, isolées d'abord, ou en petits groupes, puis se multipliant rapidement sur place en amas volumineux autour

des ramifications du filament primitif. A ce moment (dès le lendemain du semis parfois), ces amas font littéralement disparaître dans leur masse de longues régions des fila-

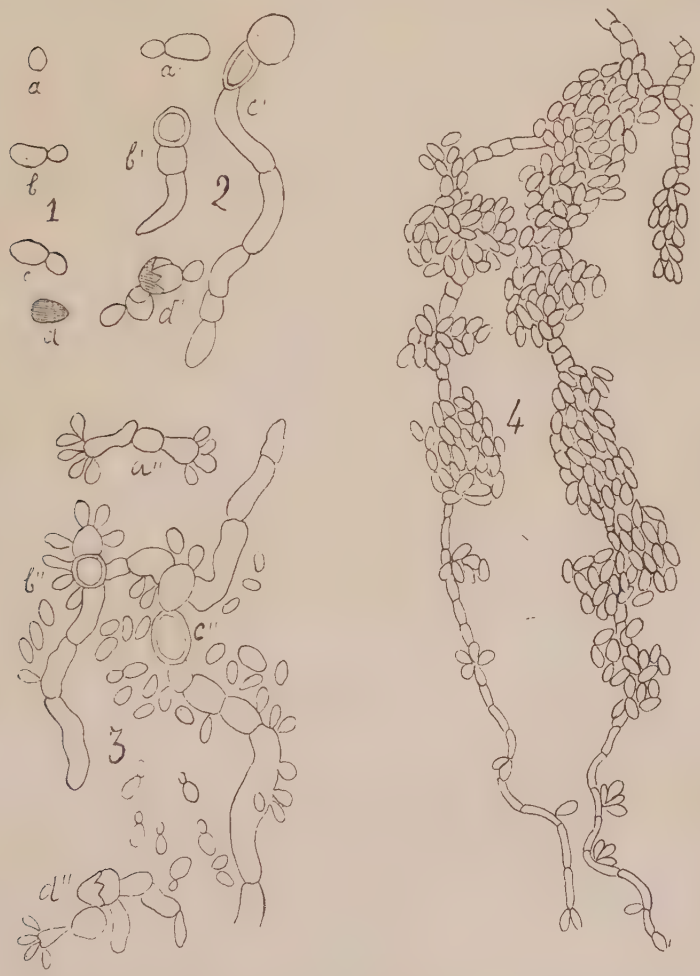

Fig. 50. — Germination en cellule sur gélatine nutritive : 1, après quatre heures ; — 2, après huit heures ; — 3, après treize heures ; — 4, après deux jours.

ments et la culture a tout à fait l'aspect représenté par Laurent dans son mémoire (1). Chaque conidie a pris l'aspect d'une forme-levure ovoïde (fig. 50).

(1) Laurent, *loc. cit.*

Il est fréquent, après quelques jours (une semaine environ) de voir le *Dematium* cesser de bourgeonner et se fragmenter, chaque article continuant à donner des levures : celles-ci poussant à leur tour, la culture sur gélatine prend alors un aspect différent du premier : au lieu de quelques filaments assez longs, chargés de formes-levures, elle est remplie de fragments courts et tortueux souvent irréguliers, conidifères aussi, mais moins abondamment (fig. 51).

Fig. 51. — Fragmentation des filaments.

Bientôt la division ne se fait plus qu'en levure.

A ce moment, de nombreuses gouttelettes huileuses apparaissent dans les cellules dont quelques-unes commencent à se cutiniser. Les filaments qui persistent s'épaississent fortement : les levures grossissent et se colorent : elles existent seules sur les bords de la culture. Quelques-unes se déforment comme sur la pomme de terre, et deviennent volumineuses, granuleuses, plus ou moins sphériques, épaisses, s'enkystent en un mot. Dans les milieux où la cutinisation est énergique et rapide, elles forment les kystes noirs, isolés, ou développés sur le parcours des filaments, et que l'on rencontre si fréquemment chez cette espèce.

Fig. 52. — Dégénérescence des filaments.

On retrouve ces deux formes, *Dematium pullulans* et levures, dans les cultures sur gélatine en boîte de Pétri.

A la longue, le milieu nutritif s'appauvrissant, les cellules se déforment souvent au lieu de se cutiniser, constituent de vagues filaments, ou végètent isolément. Elles sont irrégulièrement arrondies, pleines de gouttelettes huileuses, ont double contour, une cutinisation faible ou nulle ; quelques filaments, dont les cellules granuleuses sont séparées

par des intervalles incolores et vides, y sont mêlés. C'est une forme de dégénérescence (fig. 52) : à ce moment, la gouttelette de gélatine a disparu à peu près (15 jours). D'autres fois, les cellules très granuleuses se désagrègent et les granulations sorties s'agglomèrent en amas irréguliers; il n'y a plus aucun filament; c'est une autre forme de dégénérescence.

c. — **Germination sur acide gallique.** — Faisons maintenant germer les formes-levures sous le couvre-objet, dans une gouttelette de la solution d'acide gallique à 1 p. 100, c'est-à-dire dans un milieu à végétation anormale. La germination commence bientôt, en courts filaments, ou en levure, mais d'ordinaire les cellules se dichotomisent presque régulièrement en donnant un double bourgeon à l'extrémité supérieure, bourgeon qui se dichotomise à son tour : les cellules ainsi formées se séparent, mais après être assez longtemps restées dans leur position caractéristique. La croissance est lente. Il se produit quelques filaments assez maigres donnant parfois des conidies de *Dematium pullulans* qui végètent en levure après s'être détachées. Ces filaments sont granuleux et semblent bientôt en voie de dégénérescence. Au bout de quelques jours (4 ou 5), si la dessiccation se fait sentir, ils deviennent irréguliers, anguleux, tout en continuant à porter quelques spores. En même temps, la cutinisation commence avec ses caractères normaux, soit sur les levures, soit sur la base des filaments. Le contenu des cellules est granuleux et tend à se colorer. La cutini-

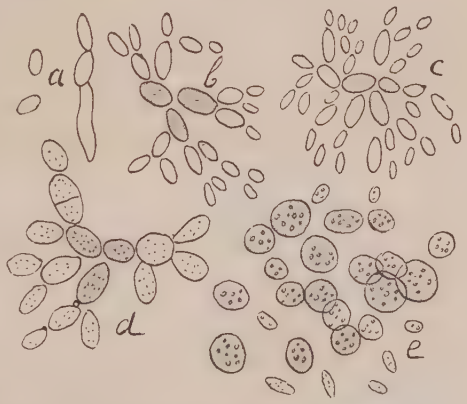

Fig. 53. — Germination sur acide gallique : *a*, après un jour; — *b*, trois jours ; — *c*, quatre jours ; — *d*, vingt jours ; — *e*, vingt-deux jours.

sation se fait sur des végétations caractéristiques, ci-dessus indiquées, et dont la disposition générale peut être comparée à celle d'un rameau d'*Opuntia* (fig. 53). Ces cellules contiennent de nombreuses granulations. Enfin, si la dessiccation se produit dans la préparation, ces cellules se désagrègent et la cutinisation continue souvent très forte. Les cellules sont alors sphériques, avec de gros globules, et mêlées d'ailleurs à des levures ordinaires mais riches aussi en globules intérieurs.

Cellules initiales. — Les cellules initiales (conidies formes-levures gonflées et cutinisées, ayant germé dans le liquide) restent parfois très nettes et faciles à retrouver même après assez longtemps (eau distillée de tilleul). Dans ce cas, elles sont plus grosses et plus colorées que les cellules qui en partent, et d'ordinaire divisées en deux par une cloison transversale. Elles paraissent terminales ou intercalaires suivant qu'un ou deux filaments en sont partis. Souvent, avant de s'allonger, la cellule primitive donne un court chapelet de grosses cellules arrondies ou ovoïdes fortement cutinisées.

Dans les cultures, on retrouve ces cellules initiales fréquemment mêlées à des levures grossies et cutinisées.

VI. — CULTURE SUR LE MILIEU-TYPE

Il faut maintenant étudier la culture entièrement développée sur le milieu-type, après un temps assez long, afin de se rendre compte de la variété des formes obtenues.

a.—*Aspect extérieur.*— Quelle que soit l'origine du semis, il se développe d'abord, ainsi que je l'ai dit, une végétation de couleur café au lait, un peu rosée ou saumonée, humide, d'aspect cireux, constituée par la forme-levure.

Si l'atmosphère du tube reste fortement chargée d'humidité (capuchon de caoutchouc), la végétation s'étend peu à peu sans changement et se conserve à cet état. Mais, nor-

malement, on voit certains points, dans les parties les plus sèches, devenir blanchâtres et porter un petit flocon laineux blanc se distinguant en somme de la végétation ordinaire par une différenciation plus nette dans le sens mycélien. Dans les cultures-contrôle, il semble que cette forme floconneuse ou étalée, blanche, soit plus fréquente, et surtout plus prompte à venir que dans les cultures primitives.

Mais la modification la plus importante est la production de formes fumagoïdes et la cutinisation du mycélium. On voit bientôt des taches verdâtres, puis noirâtres, se montrer sur les parties couvertes par la végétation primitive et aussi dans les régions du tube contenant du liquide. Lorsqu'un tampon de coton existe au-dessous de la pomme de terre, il est toujours parcouru par des filaments verts ou vert brun, visibles à l'œil nu, et les diverses formes du champignon s'y montrent abondamment. Les parties noires de la pomme de terre n'offrent ni filaments, ni tomentum : c'est une sorte de tache d'encre qui s'étale en surface et se substitue à la végétation primitive. Si l'on ressème sur le même milieu cette tache noire, ou les filaments blancs, on obtient invariablement la végétation café au lait.

La tache noire est due à la transformation directe et à la cutinisation des levures. A la longue, tout devient noir.

b. — *Caractères microscopiques.* — On trouve d'abord seules, puis mêlées aux autres éléments, les formes-levures dont je ferai l'étude plus loin. On trouve aussi des filaments à grandes cellules, faiblement articulées et conidifères. Bientôt les conidies formes-levures se modifient, grossissent, s'arrondissent et se colorent de plus en plus : on peut suivre cette transformation pas à pas. Mais tandis que certaines des cellules formées se cutinisent simplement en conservant leur forme et donnent ainsi des sortes d'hypnospores, d'autres se cloisonnent transversalement une ou deux fois, d'autres encore subissent une division dans deux ou trois directions et restent ainsi à l'état de véritables *fumago* ; d'autres, enfin, continuent leur division transversale, et donnent

de vrais filaments. Mais ces filaments eux-mêmes varient beaucoup. D'ordinaire les cellules restent courtes, isodiamétriques, et souvent arrondies, agencées en un chapelet dont les articles peuvent aussi se séparer, s'égrener en grosses cellules rondes. D'autres filaments sont plus réguliers, plus cylindriques, colorés, d'autres enfin cylindriques aussi, délicats, et tout à fait incolores. En somme, sur une culture sur pomme de terre datant de quelques jours, on trouve (Pl. IV, fig. 2) :

1° Des formes-levures (conidies) germant, de taille normale.

2° Des formes-levures incolores arrondies et grossies, de dimensions très variables.

3° Des cellules cutinisées, arrondies ou ovoïdes, très différentes de taille et de couleur, avec tous les passages aux précédentes d'où elles proviennent.

4° Des filaments bruns, cylindriques, à cellules longues ou courtes, souvent avec des parties non cutinisées ou moins cutinisées, et des cellules intercalaires plus brunes.

5° Des filaments bruns moniliformes à cellules arrondies avec des passages à la forme précédente.

6° De grosses cellules arrondies brunes, analogues à 3°, mais résultant de la fragmentation des filaments.

7° Des cellules cutinisées divisées suivant plusieurs plans, en forme de *fumago*.

8° Des filaments composés de ces cellules en *fumago* (rares ici, plus fréquents dans les cultures sur carotte) (Pl. IV, fig. 3).

9° Des filaments mycéliens blancs très fins.

10° Des filaments blancs plus volumineux formés par la germination des levures.

Entre tous ces termes existent de nombreux passages. La plupart de ces éléments sont, ai-je dit, susceptibles de germer.

VII. — MODIFICATIONS MORPHOLOGIQUES DE L'ESPÈCE

Le *Dematium pullulans* offre à étudier :
1° Les formes-levures ;
2° Le mycélium avec ses modifications ;
3° Les conidies et chlamydospores ;
4° Les formes fumagoïdes.

1. — FORMES-LEVURES

Les formes-levures sont incolores, allongées, ovoïdes, souvent à double contour net, à protoplasma finement granuleux. Elles bourgeonnent à une ou aux deux extrémités, et de la même façon, si le bourgeon se détache ou s'il reste en place pour se développer en mycélium.

a. — *Dimensions.* — Les formes-levures m'ont paru assez variables suivant le milieu de culture et dans la même préparation. En tout cas, les chiffres maxima indiqués par Berlese (16 à 18 μ sur 4 à 5) sont bien plus forts que ceux que j'ai obtenus : 6 à 9 μ sur 3-4 sont une dimension normale. Mais les conidies qui vont germer grossissent beaucoup et, la multiplication en levure étant très rapide, il est fort difficile de donner des dimensions précises. Le changement de forme et de volume se produit également pour les cellules qui vont s'enkyster. Enfin, l'épuisement du milieu modifie aussi les mesures.

b. — *Végétation.* — La forme-levure végète, comme on l'a vu (germination sur l'eau de pomme de terre), de deux façons : 1° en levure; 2° en mycélium; celui-ci est formé d'articles assez gros, très faiblement attachés les uns aux autres, ramifiés et s'étendant en tous sens, mais se dissociant très facilement et donnant, eux aussi, des bourgeons qui se séparent et peuvent à leur tour végéter en levure ou devenir le point de départ d'un nouveau filament mycélien.

Si l'on comprime la préparation, les segments du filament

se dissocient et l'on n'aperçoit plus que des levures. Cependant, les filaments sont assez nombreux et assez enchevêtrés à la surface de la pomme de terre pour former une sorte de membrane épaisse et dont on peut soulever de larges fragments.

Les conidies formes-levures se produisent à la surface des cellules mycéliennes jeunes non cutinisées (1). Plus tard, il ne s'en forme plus. Mais comme elles se cutinisent bien après la cellule productrice, il arrive que des conidies incolores sont portées sur des cellules colorées (glycérophosphate monosodique, etc.) (Pl. IV, fig. 11).

Je n'ai pas étudié cette levure au point de vue physiologique, volontairement laissé de côté par moi dans ce travail. Laurent s'est assuré qu'elle n'a pas le caractère ferment, mais qu'elle intervertit le saccharose et qu'à la longue, cependant, elle produit un peu d'alcool, jusqu'à 1 p. 100.

Il la sépare des vraies levures avec beaucoup de raison, car elle n'en a ni les endospores, ni les caractères physiologiques. On a vu plus haut l'opinion de Pasteur, de Cuboni et de Berlese à cet égard (p. 167).

Laurent a aussi déterminé la température optimum qui est de 26 à 30° ; à 6°, le semis se développe déjà ; — dans l'eau à 45° pendant cinq minutes, la faculté germinative s'affaiblit ; elle disparaît dans l'eau à 48° (cinq minutes), tandis qu'à sec 100° sont nécessaires pendant le même temps pour tuer la levure. On comprend que celle-ci résiste fort bien à la surface des fruits.

c. — *Races.* — Laurent est parvenu à créer des races de ces formes-levures. Il montre que des tubes conservés à l'obscurité donnent par le semis sur gélatine des colonies blanches rayonnantes. Des semis identiques insolés pendant quatre jours au moins donnaient des colonies devenant peu à peu roses comme la levure rose de l'atmosphère, différente

(1) Voy., pour d'autres détails, la *germination des levures sur la pomme de terre*, p. 175.

cependant. Il pense que les races des levures atmosphériques et la coloration rose de beaucoup de mycéliums doivent être dues à l'action du soleil. Dans le cas particulier, la levure rose obtenue ainsi par Laurent ne revient plus au type ; elle semble rester stable.

Il est certain que dans les tubes exposés au soleil, les végétations ont une teinte rosée plus accentuée, mais il y a bien des nuances, et souvent entre des tubes placés dans des conditions identiques.

d. — *Résistance.* — Il est intéressant de constater que, malgré leur apparente délicatesse, les formes-levures ordinaires de cette espèce résistent en somme assez bien. On les retrouve avec leur forme conservée ou à peu près dans divers milieux : alors même qu'elles ont perdu leur vitalité après quelques mois, elles gardent encore longtemps leur aspect primitif avant d'arriver à la dégénérescence, à côté même de formes fumagoïdes (liquide de Raulin).

e. — *Cutinisation.* — Très souvent aussi elles modifient leur aspect et se cutinisent pour constituer des formes de résistance, susceptibles d'ailleurs de germer en filaments (1). Cette cutinisation des levures se fait rarement sans changement de forme. La levure grossit d'abord, montre une tendance à devenir plus arrondie, tout en restant toujours plus ou moins ovoïde. Le plus souvent, les deux extrémités grossissent davantage et la levure a la forme d'un biscuit. Elle devient légèrement gris brunâtre, puis peu à peu brune, quelquefois très fortement : il est fréquent alors de voir en même temps une diminution de volume et souvent

(1) La formation des fumago par cette espèce, la coloration noire s'étendant plus tard sur les milieux, sont indiquées dans le travail de Laurent. De Janczewski dit également que par évaporation du liquide les conidies se transforment en hypnospores colorées unicellulaires et cloisonnées. La membrane de ces spores est épaisse et a trois zones : 1° foncée, réticulée ; 2° gélatineuse, se gonflant souvent et se dissolvant dans le liquide ambiant ; 3° incolore. Ces spores supportent la dessiccation et germent avec une fertilité variable. Les cellules du mycélium peuvent aussi se convertir en hypnospores de même fonction. C'est, en effet, ce que j'ai constaté moi-même.

une division en deux ou en trois de cette cellule primitive. Les choses peuvent en rester là, ou l'allongement en filament mycélien continue.

f. —*Enkystement.*— Il se peut, enfin, qu'il y ait, soit pour la cellule primitive, soit pour les cellules d'un court filament émis par elle, un véritable enkystement, avec ou sans cutinisation, par épaississement de la paroi cellulaire. Ce procédé conserve très longtemps la vitalité de la plante : cet enkystement peut être total (acide gallique, etc.), ou accompagner d'autres formes mycéliennes.

La cutinisation directe des formes-levures s'observe très bien dans l'*eau distillée d'oranger*. Ici les formes-levures végètent uniquement en levures : jamais de mycélium ; chaque cellule, après avoir grossi tout en conservant à peu près sa forme ovoïde, prend une coloration gris jaunâtre avec un double contour net et ordinairement plus foncé, lorsque la cutinisation est avancée. La caractéristique est l'absence totale de toute forme filamenteuse. Les levures en germination sont très rares, parce que le bourgeon se sépare très facilement pendant la préparation (Pl. IV, fig. 6).

Dans l'*arséniate de sodium*, ordinairement peu favorable aussi, il se fait un dépôt abondant avec quelques points noirs. Au microscope, ce dépôt permet de saisir la transformation des levures en fumago, toujours précédée d'un épaississement considérable de la membrane, d'une sorte d'enkystement ; puis la cellule grossit, brunit et souvent se divise, quelquefois suivant deux plans (1) (fig. 54).

Dans l'*alun*, on peut suivre aussi pas à pas la transformation. Les levures grossissent moins et se colorent de plus en plus : division fréquente en deux ou en une petite série longitudinale de cellules, quelquefois en un vrai filament cylindrique coloré. Quelquefois aussi des régions filamenteuses incolores semblent se détruire entre des parties cutinisées,

(1) La formation de filaments fumagoïdes est le dernier terme du développement dans ce milieu. Ces filaments sont d'ailleurs formés de cellules très faiblement unies les unes aux autres.

donnant à celles-ci la valeur morphologique de chlamydospores.

Dans le *bromure de sodium*, la vitalité est faible. Le champignon forme une petite végétation membraneuse blanchâtre à centre légèrement brun. Les levures s'accroissent sans se multiplier beaucoup, quelques-unes poussent des filaments grêles qui dégénèrent bientôt sans donner aucune forme-levure, la plupart s'enkystent en grosses cellules arrondies irrégulièrement, à double contour épais et à granulations

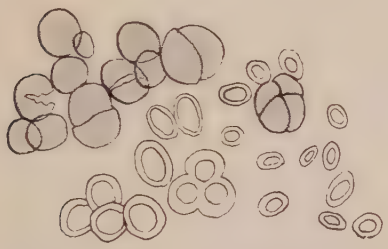

Fig. 54. — Culture dans l'arséniate de sodium.

Fig. 55. — Culture dans le bromure de sodium.

internes. Une légère coloration grise indique chez quelques-unes un commencement de cutinisation (fig. 55).

Le *chlorure d'ammonium* n'offre même que des cellules enkystées sans aucun filament.

Inversement, dans le *ferrocyanure de potassium* les formes-levures grossissent peu, conservent leur aspect et poussent ensuite en filaments assez abondants, relativement courts, assez gros, dépourvus de toute espèce de cutinisation, et stériles, enchevêtrés en une membrane blanche qui reste au fond du tube.

Dans le *chlorure de baryum*, le mycélium se développe un peu en un léger flocon, mais ses filaments très fins dégénèrent assez vite, deviennent granuleux, et les formes-levures disparaissent presque. La vitalité est conservée pendant six mois au moins, contrairement aux précédentes cultures (sauf celles du bromure de sodium et du chlorure ammonique).

La *liqueur de Fowler* normale ne donne aucune végétation. Si on l'étend de moitié d'eau, les formes-levures s'y multiplient sans grossir et se remplissent de fines granulations noires. A cet état, elles meurent, et le semis de contrôle reste stérile.

Enfin, parfois les levures dégénèrent au bout de quelque temps sans s'être multipliées, sans avoir poussé de filaments, sans cutinisation ni augmentation de volume. C'est ce qui se passe dans le *chlorure* et l'*iodure de sodium* par exemple.

2. — MYCÉLIUM

Les cellules incolores du mycélium, lorsqu'elles existent, peuvent être, on l'a vu, très lâchement unies entre elles, et former des filaments rameux de dimensions variées, mais sans caractère spécial. Elles restent souvent comme moyen d'union entre des cellules cutinisées.

a. — **Cutinisation.** — Elle donne des formes spéciales plus intéressantes. Normalement, le mycélium cutinisé est formé d'articles cylindriques ou courts, à parois assez épaisses, d'un brun uniforme plus ou moins foncé. Il n'est pas rare de voir ce mycélium, lorsque les filaments en sont raides et cylindriques, à articulations nettes, prendre une certaine ressemblance avec celui du *Cladosporium*, être en un mot clasdosporioïde. Mais ce n'est là qu'une ressemblance d'organes végétatifs, qui d'ailleurs n'arrive pas à l'identité, et jamais je n'ai trouvé sur des filaments de *Dematium* aucune spore de *Cladosporium*, pas plus que les cultures pures de *Cladosporium* n'avaient donné de conidies de *Dematium*.

Quelquefois les filaments mycéliens prennent une forme géniculée (eau distillée, etc.) ou tortueuse, sans intérêt spécial.

Très souvent, au contraire, les cellules se renflent et s'arrondissent en tonnelet ou en sphère, formant un filament toruleux si toutes les cellules prennent part à cette

modification, un chapelet irrégulier si des parties normales séparent les articles renflés (acide tartrique, etc.).

Le ferrocyanure de potassium, l'acétate de sodium, les chlorures de baryum et d'ammonium n'ont donné qu'un mycélium incolore.

Dans quelques autres milieux, au contraire, la cutinisation a été totale ou à peu près [acide tartrique (Pl. IV, fig. 10), ac. sulfurique, lactophosphate de calcium, sulfate de magnésium, etc.]. Mais presque partout le mycélium coloré très abondant est accompagné de parties non cutinisées.

b.— **Mucilage.**— La présence du mucilage est ici très intéressante : auréole transparente autour des éléments; légers grumeaux très fins donnant l'aspect hispide aux cellules; partie sous-cuticulaire de la membrane, gélifiée, gonflée et amenant l'éclatement de la cuticule et souvent le dépouillement du filament tout entier; tout cela a déjà été vu pour les trois premières Dématiées, mais prend ici une fréquence et une intensité plus grandes. Enfin, phénomène déjà vu aussi dans la plupart des espèces étudiées, mais surtout dans l'*Alternaria varians*, l'enveloppe extérieure, fendue ou brisée, laisse échapper au dehors une sphère formée par la cellule elle-même, entourée de la partie interne de la membrane et d'une atmosphère gélatineuse qui n'est autre que la membrane moyenne gélifiée.

La gélification est poussée à l'extrême dans certains milieux, comme le biphosphate de calcium par exemple. Ici, la végétation est stérile et les filaments, après s'être développés, dégénèrent. Les files de cellules reposent sur une sorte de membrane gélatineuse et semblent, comme cette membrane elle-même, percillées de petits trous très fins, dus à la rétraction du mucilage. Cet aspect se rencontre assez souvent chez les champignons dans les milieux défavorables.

Dans le cas particulier, le mycélium était mort.

En somme, la gélification est normale. Elle se fait aux dépens de la membrane. Si celle-ci est restée mince, incolore, ou peu cutinisée, le mucilage est extérieur et

entoure simplement la cellule avec plus ou moins d'abondance et d'épaisseur. Si la cutinisation est très forte, la cuticule résiste, puis se fend ou se brise sous l'effort du mucilage sous-jacent et du protoplasma central. La membrane alors a trois zones, cuticulaire, mucilagineuse, normale, ainsi qu'on l'a vu dans les généralités.

c. — **Mycélium stérile.** — Cutinisé ou non, le mycélium peut être stérile, c'est-à-dire ne porter ni forme-levure, ni conidie d'aucune sorte (au moins après son développement complet, car les formes-levures ont pu se montrer au début, puis disparaître). Mais, comme on va le voir, certaines formes enkystées, fumagoïdes, se rapprochent beaucoup des chlamydospores, et en tout cas, il semble difficile d'appeler *stérile* un mycélium qui se fragmente en sphères ou en éléments susceptibles de germer et de se développer. Au total, les conidies ne sont pas autre chose qu'une fragmentation mycélienne différenciée, et l'on trouve tant de passages entre une forme nettement conidienne et un mycélium fragmenté, que l'on ne peut vraiment pas indiquer de limite. Les articles mycéliens germant dans le liquide sont un mode de reproduction véritable, et, par conséquent, les formes réellement stériles de ce champignon deviennent assez rares, même dans les filaments immergés. Il en existe cependant quelques types. D'autre part, les formes conidiennes nettes sont rares aussi, il faut bien le dire, ainsi que la reproduction en levure, sur les végétations anciennes, en sorte que l'intérêt se concentre beaucoup sur les formes enkystées.

3. — Conidies et chlamydospores

Les formes variées du mycélium peuvent amener soit à la formation de bourgeons latéraux qui se détachent, soit à la séparation d'articles intercalaires entre lesquels le mycélium se détruit. La définition des conidies et des chlamydospores n'est pas si nettement limitée que l'on ne puisse

donner ces noms à ces productions qui en jouent absolument le rôle.

On trouve des organes de ce genre dans les cultures sur le *glycérophosphate monosodique*. Ce milieu donne des filaments cutinisés ou non, avec alternance de parties colorées et incolores, mais forme latéralement des conidies parfois assez abondantes, identiques d'ailleurs (quoique moins nombreuses) à celles du *Dematium* typique. On les trouve d'ordinaire sur les parties incolores des filaments, mais quelquefois sur les cellules colorées. Les filaments bruns ont également une grande tendance à la formation des cellules latérales qui deviennent beaucoup plus volumineuses que les formes-levures blanches, se cutinisent, se détachent et ont la valeur morphologique de conidies (Pl. IV, fig. 11).

Examinons aussi la culture de *Dematium* dans de l'*eau distillée de roses*. Le mycélium est assez particulier, très tortueux, les cellules qui le composent elles-mêmes très souvent sinueuses. En outre, il est fréquent de voir des cellules cutinisées et blanches alterner sur le même filament (Pl. IV, fig. 7).

Enfin, on trouve dans la préparation de très nombreuses cellules ovoïdes, cutinisées, brun clair, destinées à conserver et à propager l'espèce. Mais ces cellules peuvent provenir de trois origines et sont par conséquent distinctes au début.

1° Les unes proviennent de la cutinisation de formes-levures, comme celles de l'eau distillée d'oranger ; mais ici, coloration plus brune et cutinisation plus forte : tous les passages ;

2° D'autres sont des cellules terminales des filaments principaux ou des branches du mycélium : ces cellules s'arrondissent et se détachent. Elles ont la valeur morphologique de conidies, mais la différenciation est faible relativement ;

3° Sur le trajet des filaments, certaines cellules cutinisées s'isolent par la disparition des parties filamenteuses

blanches qui les séparent. On peut rapprocher ces cellules de mycélium durable, des *chlamydospores*.

Mais, point intéressant, il devient alors impossible d'assigner avec certitude une de ces trois origines à une cellule isolée, brune, ovoïde, prise au hasard dans le liquide, et arrivée au développement complet.

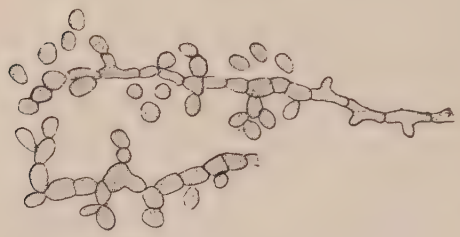

Fig. 56. — Culture dans eau distillée. — Conidies.

La végétation dans l'*eau de mélisse* est fort analogue; les filaments sont seulement plus réguliers dans l'ensemble; on y voit quelques cellules initiales (moins que dans l'eau de tilleul).

Dans l'*eau distillée* elle-même, la cutinisation est forte sur certains filaments, tandis que d'autres restent parfaitement incolores. Ici on trouve une masse de cellules ovoïdes isolées, mais si quelques-unes proviennent sans doute de la cutinisation directe des levures, la plupart ont pour origine la fragmentation ou le bourgeonnement des filaments mycéliens bruns qui sont presque toujours plus ou moins moniliformes, et dont les articles portent à peu près tous la trace de l'insertion d'une spore ou un article sporiforme arrondi (fig. 56).

Fig. 57. — Culture dans eau distillée de tilleul. — Conidies. Cellules initiales.

L'*eau distillée de tilleul* (fig. 57), le *glycérophosphate monosodique*, etc., peuvent être cités comme donnant des conidies analogues, toujours cutinisées, et ordinairement plus ou moins sphériques. On pourrait d'ailleurs facilement trouver des passages entre les conidies et les formes-levures incolores, soit pour la coloration, soit pour la disposition sur les filaments (Pl. IV, fig. 1 et 11, etc.).

Cette formation de conidies n'est pas toujours nécessairement en rapport avec une grande vigueur du végétal. Ainsi, dans la solution d'*urée*, le développement est à peu près nul et le microscope montre cependant quelques filaments blancs ou un peu teintés de gris, portant des formes-levures plus arrondies qu'à l'ordinaire.

4. — FORMES FUMAGOÏDES

L'espèce ici décrite a une remarquable tendance à la production de fumago (1). Non seulement les liquides qui donnent souvent ce mode de végétation ont leur action ordinaire, mais la plupart des acides et beaucoup de milieux chimiques offrent des formes ramassées et divisées, mêlées souvent à des types différents. Du reste, ici le mot de végétation *en fumago* n'a rien de bien nettement défini; il signifie seulement végétation en groupes cellulaires courts et isolés, parfois en cellules séparées, ordinairement très cutinisées. En effet, avec cette espèce, les divers milieux ci-dessus désignés offrent des végétations qui, encore qu'elles répondent à la définition vague qui vient d'être donnée, ne sont pas du tout identiques, ainsi qu'il sera facile de le voir, et ne sont pas susceptibles d'une description d'ensemble.

L'origine des cellules fumagoïdes est très diverse : cellules de *Dematium* (articles terminaux, latéraux ou intercalaires) cutinisées et séparées ; *formes-levures* développées, septées ou non et cutinisées, etc. Laurent y ajoute les conidies du *Cladosporium* typique et de l'*Hormodendron cladosporioides*, qui ont en effet un aspect fumagoïde aussi, mais appartiennent à une autre espèce.

Ces formes peuvent donner de véritables kystes à paroi épaissies.

(1) L'existence des formes-levures dans le cycle évolutif des fumago a déjà été indiquée par Zopf, Laurent et d'autres observateurs, qui ont décrit les formes-levures comme un stade ou un aspect particulier des *Dematium*.

Dans le *Cladosporium*, il n'y a pas de formes-levures; on ne voit pas les spores se gonfler et se diviser en plusieurs plans après leur séparation, mais seulement des articles mycéliens se renfler çà et là, isolément ou en séries, et passer plutôt à la chlamydospore qu'au fumago véritable. Celui-ci se produit pourtant quelquefois, mais seulement par transformation de filaments mycéliens, qui restent courts, stériles, à cellules renflées, arrondies, fortement cutinisées (liquide de Raulin, voy. p. 140).

La formation des fumago de *Dematium* s'est montrée fréquente et abondante sur les milieux acides (acides gallique, tartrique, glycérophosphorique, etc., etc.). Mais on la rencontre aussi sur d'autres (glycérophosphate disodique, dextrine, etc.), en sorte que l'on ne peut donner de conclusion générale.

La cutinisation des formes fumagoïdes atteint ici un degré très considérable (le plus haut que j'aie constaté chez les Dématiées). Il existe tous les passages, cela est certain, mais le degré maximum des autres espèces est souvent dépassé. Dans une forme fréquente de végétation fumagoïde où les éléments sont très volumineux et sphériques, la paroi cellulaire devient à peu près noire. Ces gros éléments noirs qui vont être décrits se rencontrent souvent dans les solutions acides (citrique, glycérophosphorique, tartrique), et aussi dans quelques autres milieux (eau glycérinée, lactophosphate de calcium, gomme, etc.). La surface des cellules cutinisées est quelquefois recouverte de mucilage; parfois aussi (liquide de Raulin, etc.) elle est entourée de fins débris amorphes colorés, provenant de la cuticule brisée ou fendillée par la pression intérieure du mucilage et du protoplasma.

La combinaison des divers modes de cutinisation, d'enkystement et de gélification, suffit à expliquer la grande variété d'aspect de cette espèce. La même préparation, du type général fumagoïde, peut offrir les formes végétatives les plus diverses.

On ne peut évidemment passer en revue tous les milieux expérimentés, mais il faut choisir quelques exemples plus précis de ces divers ordres de végétations fumagoïdes d'origine mycélienne. (On a vu plus haut la formation des hypnospores par cutinisation de formes-levures.)

a. — **Liquide de Raulin.** — La forme fumagoïde du liquide de Raulin est spéciale (Pl. IV, fig. 5). A côté de formes-levures bien conservées et granuleuses, se trouvent des masses noires formées de cellules ordinairement isolées, ovoïdes, plus rarement réunies en courts filaments irréguliers, et dont la paroi fortement cutinisée tend à se dissocier, en sorte que ces cellules paraissent couvertes de fins débris noirâtres. La membrane est épaissie en même temps et semble laisser sortir quelquefois son contenu (moins nettement qu'ailleurs). En somme, végétation très abondante, mais forte tendance aux fumago. L'épaississement assez grand de la paroi dans certaines cellules de cette préparation les rapproche des fumago de l'acide gallique ; mais la forte cutinisation les sépare.

b. — **Arséniate de sodium.** — Ordinairement peu propre au développement des champignons, il a donné ici un dépôt abondant avec de petits points noirs. Au microscope, on trouve, à côté de nombreuses cellules incolores (levures plus ou moins enkystées), une végétation du type fumagoïde. Ce sont des filaments formés de gros éléments arrondis fort peu cohérents, plus ou moins foncés, enkystés, à paroi souvent épaisse (Voy. fig. 54, p. 191).

c. — **Acide citrique.** — Le fumago est très net dans l'acide citrique. Presque pas de filaments : la plupart des cellules sont isolées ou en groupes plus ou moins arrondis, formés de gros éléments sphériques très foncés, à peu près noirs. D'autres sont en groupes plus petits, pauci cellulaires, ordinairement à 3 cellules, à éléments de moindres dimensions et moins colorés. Enfin, la plupart des cellules sont isolées ou très fréquemment segmentées en deux par une cloison transversale : cutinisation inégale, mais

souvent très forte. Les filaments sont peu nombreux et courts, quelquefois un peu plus développés, mais à éléments rarement bien colorés. Enfin, on voit dans ce milieu des cellules sortant de leur cuticule. Quelques-unes (rares) ont un commencement de germination (Pl. IV, fig. 8).

d. — **Acide tartrique.** — Dans l'acide tartrique, les fumago forment de petits groupes centraux à grosses cellules arrondies, en paquets, d'où divergent des filaments assez réguliers avec quelques hétérocystes bruns de loin en loin, assez souvent divisés en quatre par deux cloisons perpendiculaires. En somme, type à la fois filamenteux et fumagoïde. Il contient aussi des levures cutinisées (Pl. IV, fig. 10).

e. — **Eau glycérinée.** — Dans l'eau glycérinée, la variété des formes est encore assez grande : il existe des filaments bruns avec cellules intercalaires, plus foncées ou au contraire incolores et fines. Mais il existe surtout de très gros éléments arrondis, dont la cuticule foncée se rompt pour laisser sortir le contenu sphérique entouré par la membrane interne à double contour et renfermant d'ordinaire un gros globule huileux. Ces cellules fumagoïdes sont en paquets plus ou moins gros, petits groupes, courtes chaînes, ou enfin en éléments isolés. Dans le liquide nagent souvent des sphères blanches, tantôt granuleuses, tantôt contenant une grosse masse réfringente centrale (huileuse), qui peut même les remplir complètement. Aucune forme-levure intacte, mais quelques-unes cutinisées brunes. Des granulations protoplasmiques abondantes se trouvent aussi dans le liquide, par destruction, sans doute, des grosses sphères envahies par l'huile (Pl. IV, fig. 4).

L'acide glycérophosphorique, le lactophosphate de calcium et bien d'autres milieux montrent aussi ce phénomène curieux de la sortie des éléments hors de leur cuticule.

f. — **Carotte.** — La culture sur fragments de carotte offre bien des points de ressemblance avec la végétation sur pomme de terre. Pourtant, il faut noter ici une tendance des cellules

à se segmenter suivant plusieurs plans, et à donner ainsi des formes fumagoïdes; mais très souvent ces cellules ainsi divisées restent unies en files et l'on a des sortes de filaments fumagoïdes, bien que ces deux mots semblent peu compatibles (Pl. IV, fig. 3). Cette disposition peut se montrer avant ou pendant la cutinisation. On trouve d'ailleurs tous les intermédiaires entre ces filaments, le petit groupe fumagoïde et les cellules isolées, blanches et brunes, qui abondent dans la préparation.

g. — **Glycérophosphate monosodique.** — On a vu que dans ce milieu les filaments donnaient des conidies latérales qui se cutinisent et se détachent. Les cellules mycéliennes ont de plus tendance à la division suivant deux plans : si elles se séparent alors des autres par groupes, on a de vrais *fumago*. Ces caractères se rencontrent tout spécialement sur le bois imprégné de glycérophosphate monosodique. Dans le liquide, les gros chapelets de cellules arrondies, dont beaucoup laissent sortir leur sphère centrale, sont mêlés aux filaments bruns et blancs et aux nombreux petits éléments fumagoïdes. Les filaments conidifères sont toujours de faible diamètre (Pl. IV, fig. 11).

h. — **Glycérophosphate disodique.** — Dans le glycérophosphate disodique, les phénomènes sont très sensiblement différents, chose rare, car ces deux milieux ont ordinairement une influence très analogue. Ici, presque pas de mycélium, même toruleux, mais seulement des amas de cellules fumagoïdes variant d'ailleurs de dimensions et de cutinisation, divisées souvent selon plusieurs plans. Assez grand nombre de levures incolores de dimensions normales ou augmentées et germant (fig. 58).

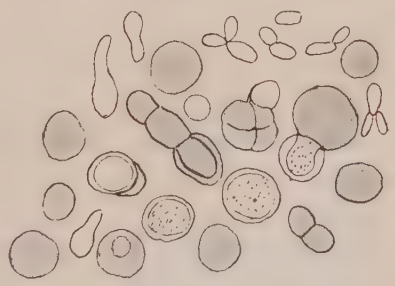

Fig. 58. — Culture dans le glycérophosphate disodique.

En somme, ici la proportion plus grande de soude semble avoir empêché le développement en longueur des filaments et augmenté la tendance à la formation de fumago par des cellules isolées ou en petits groupes arrondis. Dans les deux milieux, la cutinisation est très forte, la cuticule se rompt facilement sous la pression intérieure, et la sortie de la cellule hors de son enveloppe est fréquente. En même temps, des gouttelettes d'huile de toutes dimensions se montrent dans la préparation : elles sortent des cellules où on les voit très nettement.

i. — **Lactophosphate de calcium.** — Au début, filaments en voie de cutinisation et dont les régions incolores portent des formes-levures de *Dematium* parfois abondantes.

Plus tard, dans les cultures âgées, on trouve des filaments volumineux et irréguliers formés de grosses cellules, arrondies, foncées, presque noires, laissant sortir la sphère centrale très souvent, et portant à la surface de petits débris brunâtres (Pl. IV, fig. 17). Dans le liquide flottent aussi des filaments normaux à articles allongés, alternativement colorés et incolores.

j. — **Dextrine.** — La culture sur dextrine est caractérisée surtout par deux faits : 1° gélification abondante, avec formation d'une large membrane mucilagineuse et fendillement de la plupart des cellules cutinisées ; 2° tendance prononcée à la végétation en cellules séparées, fortement colorées.

Mais ce milieu peut offrir d'assez grandes différences. En solution faible (5 p. 100), les filaments sont plus nombreux, plus nets, et se renflent de loin en loin en cellules sphériques, vrai chapelet à grains inégaux et diversement cutinisés. Sur d'autres points, des cellules fumagoïdes sont répandues sur une membrane mucilagineuse amorphe. Plus tard, les filaments intercellulaires disparaissent et la végétation se rapproche de celle que l'on obtient plus vite avec les solutions concentrées. Les cellules isolées, comme piquées sur du mucilage, existent seules dans les solutions plus épaisses (à 20 p. 100 par exemple) : mais ces cellules isolées,

au lieu de rester petites, sont alors très inégales et deviennent souvent démesurées (45 μ de diamètre), les filaments restant fort rares. Ces énormes kystes fendent leur cuticule et laissent sortir une grosse sphère granuleuse, un peu cutinisée elle-même et légèrement jaunâtre. L'enveloppe vide et flasque reste dans le liquide comme une sorte de ballon dégonflé (Pl. IV, fig. 15). Elle répond, semble-t-il, à certains corps fréquemment trouvés dans les solutions, eaux distillées, etc., envahies par des champignons. On peut, dans ce milieu, suivre pas à pas la transformation des levures en grosses cellules blanches, puis colorées, enkystées, enfin émettant leur contenu.

La plupart des cellules colorées proviennent ainsi directement de formes-levures modifiées.

Si l'on imprègne de dextrine des corps divers, on observe une tendance à la végétation ci-dessus décrite, mais avec mycélium moniliforme (bois), ou nombreux filaments blancs fins produisant des conidies de *Dematium pullulans* qui végètent en levure (éponge), ou enfin avec une cutinisation beaucoup plus faible (pomme de terre).

La culture dans la dextrine donne d'abord une sorte de dépôt blanchâtre par multiplication des levures semées; bientôt ce dépôt devient floconneux, grisâtre, et une zone de plus en plus foncée s'étale à la surface du liquide. Cette végétation s'épaissit beaucoup et peut devenir très vigoureuse.

Le liquide est trouble (levures) et prend une coloration rougeâtre. Il reste limpide et de teinte claire avec le *Cladosporium*. Du reste, ce milieu est beaucoup plus favorable au *Dematium* qu'au *Cladosporium* ; la végétation du premier est plus abondante et plus rapide. La même observation s'applique à la mannite, au glycérophosphate monosodique, à la gomme, au glucose, etc.

k.—**Gomme**.—Les cultures ont été faites dans des solutions à 3 degrés de concentration et présentent des différences à côté de caractères communs. Ainsi la disposition en fila-

ments est d'autant plus rare que la concentration est plus grande et la gélification est, au contraire, en raison de la viscosité.

α. — La solution claire contient de nombreux filaments cutinisés bruns ou jaunâtres avec intercalation de cellules arrondies plus foncées. Une membrane flottant dans le liquide est formée par un mycélium à innombrables conidies brunes. Mais déjà la préparation contient nombre de ces éléments isolés, si abondants dans les solutions épaisses.

β. — Dans la gomme de viscosité moyenne : filaments plus rares ; un peu de mycélium blanc avec quelques conidies qui n'ont jamais l'abondance du type *Dematium pullulans*. Cellules colorées, isolées ou en petits groupes ou en courtes files de trois ou quatre, rappelant certaines formes de mycélium durable.

γ. — Enfin, sur la gomme très épaisse, la végétation devient à peu près identique à celle de la dextrine à 20 p. 100, ce qui montre que la viscosité, l'état physique, est pour beaucoup dans la disposition fragmentée.

Ici encore les cellules sont isolées, étendues d'ordinaire sur une lame de mucilage. Certaines d'entre elles grossissent d'une façon démesurée, sortant (comme d'ailleurs beaucoup de cellules moins volumineuses) de leur cuticule déchirée, et les coques cuticulaires vidées se rencontrent souvent dans le liquide.

Dans les cultures très anciennes sur gomme, on trouve la plupart des formes de cutinisation, et en particulier les gros kystes arrondis et noirs isolés ou groupés que présente cette espèce dans d'assez nombreux milieux. C'est le résultat de la cutinisation extrême des cellules volumineuses ci-dessus mentionnées.

Le champignon cultivé sur gomme ne tarde pas à former à la surface du liquide un disque noir dont l'épaisseur est en rapport avec la concentration de la solution.

Au-dessous de la végétation superficielle, une sorte de nuage rougeâtre flotte dans la masse visqueuse épaisse ou

demi-épaisse. Malgré son aspect membraniforme, il est constitué uniquement par du mucilage. (Ce flocon ne se forme pas dans les cultures parallèles du *Cladosporium*.) Plus tard, surtout si l'on agite le tube, la végétation superficielle du liquide plonge au fond sous forme d'un disque et entraîne avec elle ce dépôt floconneux. Le liquide supérieur redevient alors limpide.

l. — **Glucose.** — Dans cette solution, comme dans la gomme d'épaisseur moyenne, on trouve à la fois une grande abondance de cellules isolées et gélifiées et des filaments nombreux, très cutinisés aussi ou incolores, les uns moniliformes, les autres cylindriques avec cellules arrondies intercalaires.

m. — **Mannite.** — Sur la mannite, le développement se fait sous forme de filaments toruleux à cellules bien arrondies ou ovoïdes, de coloration un peu variée, ordinairement brun jaune, mais avec quelques cellules brun foncé. Assez souvent, il y a division suivant deux plans. Très nombreuses cellules ovoïdes provenant, soit du développement des levures, soit de la fragmentation des filaments.

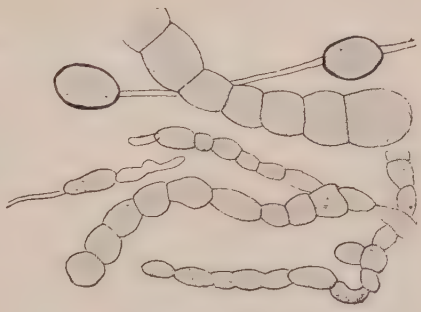

Fig. 59. — Culture dans la solution de mannite à 10 p. 100. — Chlamydospores.

Dans les solutions à 5 p. 100, les filaments sont plus régulièrement moniliformes, et les cellules plus égales que dans celle à 1 p. 100. De plus, l'éclatement de la cuticule est plus marqué, mais il n'y a pas réellement de sortie du contenu. Dans la solution à 10 p. 100, il y a de nombreuses intercalations de mycélium blanc et formation de vraies chlamydospores (fig. 59). Des filaments tout à fait moniliformes terminent d'ordinaire des parties plus cylindriques.

Mais le plus intéressant est la végétation sur bois im-

prégné de mannite. Ici, sauf quelques points filamenteux, le végétal est uniquement composé de cellules brunes ovoïdes, régulières, isolées ou divisées en deux; c'est en somme la végétation de la mannite, mais à cellules séparées, dissociées en groupes fumagoïdes. Rarement elles restent unies en filaments. Beaucoup de ces cellules proviennent aussi de levures développées, et l'on trouve tous les degrés de cutinisation et de dimensions (fig. 60).

Fig. 60. — Culture sur bois imprégné de mannite.

Le champignon forme dans la solution de mannite une végétation membraneuse noire superficielle et un dépôt légèrement coloré au fond du tube. La première augmente d'épaisseur en raison de la concentration : le second diminue au contraire à mesure que la proportion de mannite augmente.

n. — **Acide gallique.** — Par sa faible cutinisation, la végétation dans l'acide gallique s'écarte, semble-t-il, des formes fumagoïdes. Mais elle y peut rentrer cependant par son aspect ramassé, fragmenté, peu cohérent, enkysté et coloré dans son ensemble. Cette végétation mérite d'être examinée de près. Le caractère général que le milieu imprime à a plupart des champignons se montre nettement. On constate bientôt l'épaississement anormal des parois. Dans la solution à 0,5 p. 100 (fig. 61), cet épaississement est déjà bien marqué au moins pour quelques cellules qui se rapprochent encore des *fumago* ordinaires de cette espèce. Dans la solution à 1 p. 100 (fig. 61 et Pl. IV, fig. 9), la paroi cellulaire devient considérable, surtout dans la partie émergée de la culture, sur le tube. Au milieu des cellules

Fig. 61. — Culture dans solution d'acide gallique. — A gauche, solution à 0,5 p. 100; à droite, solution à 1 p. 100.

épaissies s'en trouvent un grand nombre qui continuent à végéter en levures, et gardent une paroi mince et un contenu coloré en vert foncé. La membrane des autres cellules est d'un brun très clair ou jaunâtre, elle finit par s'épaissir démesurément, d'abord sans se rompre, formant une zone d'enkystement souvent plus épaisse que le diamètre de la cavité centrale. Le phénomène spécial de la sortie des cellules hors de leur enveloppe extérieure se produit alors, malgré la faiblesse de la cutinisation. Une sphère, formée du contenu cellulaire et d'une forte proportion de la membrane, fait saillie hors de la zone externe qui l'entoure comme une capsule, mais ne s'en sépare tout à fait que lentement et tardivement (Pl. IV, fig. 9).

Les cellules peuvent d'ailleurs rester unies en chapelets. Mais par le développement anormal et quelquefois excentrique des parois, par la tendance à la sortie des éléments, les cellules sont rejetées de côté par rapport à l'axe et l'ensemble est souvent irrégulier.

Dans les tubes de culture, la végétation constitue un dépôt floconneux, brunâtre, dissocié. En même temps, la solution devient brune et même noirâtre. Les objets imprégnés de ce liquide (bois, pomme de terre) brunissent aussi. Il est intéressant de noter que la couleur est toute différente suivant qu'il s'agit du *Dematium* (rouge et plus ou moins trouble) ou du *Cladosporium* (jaune et limpide). Cette différence se retrouve avec d'autres milieux.

Du reste, l'influence directe de l'acide gallique peut être modifiée. Sur un fragment de pomme de terre stérilisé dans une solution d'acide gallique, l'action de la substance nutritive modifie tout à fait l'aspect. Les levures immergées sont souvent déformées, agrandies fortement, jaunâtres et granuleuses. Sur la pomme de terre elle-même, les déformations sont plus grandes encore, et les levures sont presque toutes très grossies et arrondies : l'influence de l'acide gallique a presque disparu. Sur du bois imprégné d'acide, il n'en reste plus rien et le champignon se développe en

longs filaments moniliformes bruns avec, parfois, des cellules cylindriques intercalaires. Le point intéressant est la tendance à la séparation de la cuticule par gélification de la mésospore : la paroi cellulaire semble alors formée de trois ou quatre couches et sur quelques points les cellules sont étalées sur un lit de mucilage. Enfin, la division cellulaire se fait souvent à l'intérieur de la cuticule qui reste comme une enveloppe commune aux deux cellules formées, bien distinctes au dedans. Dans quelques cas, cette division a été plus loin et l'enveloppe générale entoure trois ou même (très rarement) quatre cellules qui peuvent commencer à germer sans se séparer, à la manière des spores en massif (fig. 62).

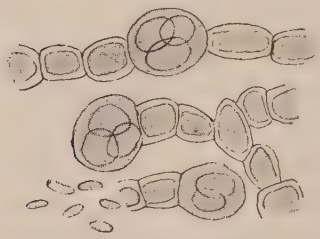

Fig. 62. — Culture sur bois imprégné de solution d'acide gallique.

Un phénomène analogue se rencontre dans les filaments développés sur du bois imprégné de dextrine ou de mannite, mais la marche de la végétation est très différente.

o.—**Acide pyrogallique.**—Se rapproche de l'acide gallique, car il amène l'enkystement des levures, la cutinisation restant très faible. Les levures, qui d'ailleurs s'y développent fort peu, grossissent légèrement, ont un contenu verdâtre ou brun, et épaississent aussi leur paroi qui prend une teinte grisâtre. Mais elles restent toujours régulières et ne donnent aucun filament (Pl. IV, fig. 13). Ces levures et les petites cellules que l'on trouve dans l'acide gallique sont agitées, lorsqu'on les examine dans l'eau, d'un léger mouvement brownien, dû probablement à l'existence autour d'elles d'une mince zone mucilagineuse.

La végétation dans l'acide pyrogallique est toujours très faible et consiste en un léger dépôt brunâtre au fond du tube.

5. — Influence combinée du liquide chimique et du substratum solide.

Avant de terminer l'étude morphologique spéciale de cette espèce, je voudrais rappeler que l'action des milieux chimiques peut être modifiée quelquefois profondément par l'influence inverse d'autres facteurs.

On sait que dans l'espoir (d'ailleurs déçu) d'obtenir des périthèces, j'ai imprégné de divers liquides des substances solides, les unes riches en matières nutritives (pomme de terre), d'autres au contraire pauvres (bois), ou même inertes (éponge) ; j'ai pu remarquer que le substratum exerce certainement une action sur le développement. C'est ainsi que sur le bois, le *Dematium* a une tendance à diviser certaines de ses cellules suivant deux plans, quelle que soit la substance imprégnante. C'est ainsi encore que sur l'éponge les formes-levures normales se multiplient toujours en abondance à côté d'autres modes de végétation. C'est ainsi enfin que la pomme de terre diminue sensiblement partout l'intensité de la cutinisation, indépendamment du liquide employé, et que les cellules y augmentent de volume jusqu'à devenir énormes. Le liquide d'ailleurs exerce sa grande part d'influence sur la culture, et lui imprime souvent des caractères spéciaux, mais l'action du substratum reste intéressante. Les diverses cultures sur pomme de terre, par exemple, sont à peu près identiques : partout sont des cellules arrondies, blanches, à double contour ; d'autres plus ou moins cutinisées (toujours faiblement, malgré l'aspect noir de l'ensemble de la culture) ; quelques-unes très développées, énormes relativement, sphériques et granuleuses ; beaucoup en vrais *fumago* parfois avec sortie de la cellule hors de l'enveloppe externe ; ce sont là des caractères communs que la substance imprégnante n'efface pas. Mais on remarquera qu'il s'agit ici d'une végétation émergée et c'est là que le substratum agit le plus.

Cette action du substratum, quand il constitue une substance alimentaire, était certaine *à priori*. On peut facilement la mettre en évidence tout en montrant qu'elle se combine avec celle du milieu même. Ainsi la culture du *Dematium* ne donne à peu près rien dans l'acétate de soude. Les levures se multiplient lentement, parviennent à peine à donner quelques filaments blanchâtres très fins et d'aspect malingre, puis tout reste en l'état et la vitalité disparaît bientôt. Si la solution d'acétate contient de l'eau de pomme de terre, il s'y développe une vraie membrane, flottant au fond du tube et dont les cellules constituantes sont simplement accolées, volumineuses, arrondies, d'aspect flasque, et peu granuleuses, rappelant beaucoup les grosses levures déformées qui se développent sur la pomme de terre et qui s'y fumaginisent à sec (fig. 63). La végétation n'est pas celle que présente normalement le tube de pomme de terre, mais le *Dematium* se montre plus vigoureux et résistant, bien qu'avec une forme spéciale.

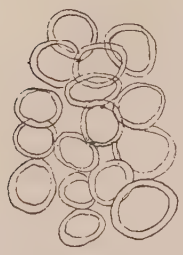

Fig. 63. — Culture sur pomme de terre, imprégnée de la solution d'acétate de sodium. Membrane immergée.

Le type fumagoïde ne se produit pas ici : on le trouve sur l'éponge ou le bois imprégnés d'acétate et sur lesquels la forme filamenteuse réapparaît aussi (Pl. IV, fig. 16).

En la cultivant sur un substratum inerte ou peu nutritif, on soustrait en somme la plante : 1° en grande partie à l'action du liquide ; 2° tout à fait à l'influence de l'immersion. Aussi, dans ces conditions, le champignon tend-il à se rapprocher du type primitif, sans y revenir complètement. C'est un résultat auquel il fallait s'attendre.

VIII. — CLADOSPORIUM HERBARUM ET DEMATIUM PULLULANS.

Je dois maintenant examiner l'identification de ces deux espèces (1). Chose assez singulière, on discute encore sur ces champignons, si répandus dans la nature que l'on ne peut regarder la moindre brindille sèche ou le moindre épicarpe sans rencontrer l'un ou l'autre et souvent l'un et l'autre.

Le *Dematium pullulans* est une forme conidienne qui paraît commune à plusieurs espèces, ainsi que le montrent les dessins de Brefeld (2) ; mais le champignon dont je me suis occupé sous ce nom reproduit dans les cultures sur gélatine les figures de Laurent d'une façon si parfaite que j'ai la conviction que nous avons eu la même plante sous

(1) La discussion qui va suivre était écrite déjà lorsque j'ai lu l'intéressant mémoire de Berlese (*) sur cette question, et j'ai été très heureux de me trouver sur ce point en parfait accord avec ce savant dont les travaux font autorité en mycologie. Berlese avait remarqué que le *Dematium* s'enkystait à l'air et en avait conçu des doutes sur l'identité admise avec le *Cladosporium*. Il a donc fait des cultures pures de *Cladosporium* et constaté, lui aussi, que dans la gouttelette suspendue il obtenait presque toujours du *Dematium* en mélange, tant la séparation était difficile. Mais il a eu l'idée de semer cette espèce en recueillant seulement les conidies d'*Hormodendron cladosporioides* développées en pinceaux hors de la gouttelette de culture. Dans ces conditions, jamais le *Cladosporium* n'a donné de *Dematium pullulans*. L'auteur fait aussi remarquer que les cellules de *Dematium* sont très fréquentes sur une foule d'autres champignons dans la nature, et doivent être semées avec eux.

On a vu que, d'après Berlese, le *Cladosporium herbarum*, tel qu'on le décrit, est probablement une forme commune répondant à plusieurs espèces. Aussi croit-il qu'à la rigueur quelque *Cladosporium* étudié sous le nom d'*herbarum* a pu donner des générations de *Dematium*. La chose est évidemment possible ; mais comme je crois, d'après les excellentes descriptions de Laurent (**), avoir eu affaire au même *Cladosporium* et au même *Dematium* que lui, je suis plus affirmatif et pense qu'il y a eu simplement mélange des deux champignons. Lœw déclare aussi n'avoir jamais pu passer de l'une à l'autre de ces deux espèces.

(2) Brefeld, *loc. cit.*

(*) Berlese, *loc. cit.*
(**) Laurent, *loc. cit.*

les yeux. Seulement, Laurent la considère comme une forme submergée du *Cladosporium herbarum*, et ses conclusions ont été très généralement adoptées. De Janczewski les accepte, bien qu'il fasse des réserves et qu'il donne des résultats personnels d'expériences qui ne concordent pas avec ceux de Laurent.

Il importe donc d'examiner de très près cette question, que la comparaison des cultures pures des deux espèces permettra de résoudre dans le sens de la distinction spécifique.

Laurent a consacré un mémoire de grand intérêt au *Cladosporium* (1). Il l'a, comme on le sait, rapproché très justement du *Penicillium* (*Hormodendron*) *cladosporioides*, a cultivé l'espèce sur divers milieux et a pensé que le *Dematium pullulans* devait être identifié avec elle. Déjà Saccardo, d'après la ressemblance des filaments mycéliens, avait émis cette opinion (2) et plusieurs auteurs après lui avaient accepté le rapprochement sans en donner la preuve. Laurent décrit fort exactement certaines formes des deux plantes : il pense que dans quelques conditions les spores du *Cladosporium* ou du *Penicillium cladosporioides* peuvent donner une forme affaiblie qui est le *Dematium*, sans que d'ailleurs la réciproque soit possible.

Le premier point à examiner est la question de la pureté des cultures. Il ne faut pas oublier que le *Cladosporium herbarum* et le *Dematium pullulans* se rencontrent partout. Pour ma part, je les ai pour ainsi dire constamment trouvés ensemble dans les liquides que j'examinais et j'ai eu beaucoup de peine à les séparer et à les cultiver à l'état pur : des semis multiples et fréquents ont été nécessaires, mais chaque fois que la culture est bien pure, les deux espèces se maintiennent distinctes.

Or les cultures de Laurent ont été faites sur verres de

(1) Laurent, *loc. cit.*

(2) Lœw avait été frappé de cette ressemblance (1868), sans conclure pour cela à une identification des deux espèces.

montre placés dans des godets de porcelaine empilés. Le procédé, dit l'auteur, est très commode et permet d'observer facilement la croissance des mycéliums sous le microscope. Mais ce procédé a le grave inconvénient de permettre les contaminations, surtout dans les laboratoires, dont l'atmosphère est remplie de spores. Il se peut fort bien que le *Dematium pullulans* et le *Cladosporium herbarum*, que l'on rencontre si souvent ensemble dans les liquides, se soient trouvés mêlés.

De plus, il n'est dit nulle part que des précautions de stérilisation aient été prises rigoureusement pour éviter la présence de spores d'autres espèces dans les tubes.

En parlant de la formation du *Penicillium cladosporioides* sur des filaments de *Dematium*, Laurent dit encore : « J'ai eu la bonne fortune de constater le même fait dans des cultures de pollen faites dans des solutions de saccharose concentrées, et avec lesquelles il n'était pas possible d'éviter l'envahissement des chambres humides placées sous le microscope. Plusieurs mycéliums produisirent des filaments aériens de *Penicillium cladosporioides*. »

On remarquera que dans ces cultures, le *Dematium* était là comme impureté. Rien n'empêche que le *Cladosporium* y fût aussi au même titre.

Donc, un premier fait reste acquis : c'est que les cultures en question n'étaient pas à l'abri d'une contamination possible.

Mais, de plus (et je cite ici le texte de l'auteur), « il convient de faire une remarque qui n'est pas sans importance dans cette question de polymorphisme. Le *Cladosporium* donne sûrement du *Penicillium cladosporioides*, mais toutes les conidies de ces deux moisissures ne sont pas aptes à prendre l'aspect *Dematium*. J'ai pu le constater dans des centaines de cultures. Il y a plus : parmi les formes de *Dematium*, on rencontre toutes les transitions entre les mycéliums vigoureux, dépourvus de formes-levures, et des mycéliums réduits à quelques-unes de ces cellules.

Les premiers cultivés sur gélatine produisent le *Penicillium cladosporioides* : ils ne sont pas encore dégénérés aussi profondément que les formes *Dematium* avec formes-levures, qui, elles, sont absolument incapables de reprendre l'état conidifère aérien. Tous les artifices de culture que j'ai employés : cultures sur tiges, sur fruits stérilisés, dans les milieux organiques les plus variés, ne m'ont jamais donné trace de retour au type originel ».

Il faut rappeler d'abord que les filaments purement mycéliens de la plupart de ces Dématiées voisines se ressemblent ou peuvent se ressembler étonnamment. J'ai pour ma part, dans mes cultures en milieux variés, obtenu des formes cladosporioïdes fréquentes, et des formes dématioïdes avec la plupart des espèces cultivées, et en particulier avec le *Cladosporium*. Dans ces conditions, et dans des cultures où des espèces peuvent être mêlées (on a vu que c'est ici le cas), on ne peut admettre comme appartenant réellement au *Dematium* que les filaments conidifères caractéristiques, les filaments à formes-levures.

Ceci dit, il résulte du paragraphe ci-dessus cité :

1° Qu'on n'obtient le *Penicillium cladosporioides* (c'est-à-dire le *Cladosporium*) qu'en partant de filaments sans formes-levures, c'est-à-dire de filaments non caractéristiques et qui peuvent être aussi bien des filaments de *Cladosporium* stériles, dématioïdes ;

2° Que lorsqu'un filament porte des formes-levures, c'est-à-dire quand il est caractérisé comme *Dematium pullulans*, il ne donne jamais de *Cladosporium*.

Et à propos des kystes formés par cette espèce, Laurent revient sur ce point : en germant, ces kystes donnent des filaments avec formes-levures ; les plus volumineux, nés de formes affaiblies, n'ont jamais reproduit l'état *Cladosporium*. « Voilà donc, dit-il, un champignon qui peut donner un *Dematium* par dégénérescence (1) sans que

(1) Il semble assez difficile d'appliquer le mot de *dégénérescence* ou de *forme affaiblie*, etc., à un champignon qui paraît ordinairement très vigou-

la transformation inverse paraisse possible à réaliser. »

Donc, on ne peut passer du *Dematium* au *Cladosporium*.

Mais peut-on, en effet, passer du *Cladosporium* au *Dematium*? Voici ce que dit Laurent (1) : « Dans les cultures du *Cladosporium* sur les milieux liquides, on rencontre parfois, je l'ai déjà dit, des formes *Dematium* en levures. Mais elles sont peu favorables à l'examen. Il n'en est plus ainsi dans les cultures sur milieux solides, principalement sur gélatine. On voit alors les filaments mycéliens produire latéralement des formes-levures, qui par bourgeonnement constituent des colonies analogues à celles des levures cultivées sur gélatine. »

Ces cultures sur gélatine quand on part du *Dematium* sont très remarquables, en effet, et d'une rare vigueur ; la prolifération est vraiment extraordinaire, ainsi qu'on a pu le voir : une vraie *pullulation*, comme le nom l'indique. Mais il faut semer le *Dematium*. Or, Laurent dit être parti du *Cladosporium*. Et dans le même mémoire (2) il dit, à propos du *Cladosporium* cultivé sur gélatine : « Quand les conidies semées proviennent d'une forme typique, c'est-à-dire non dématioïde, on voit les filaments mycéliens envahir la gélatine, puis atteindre la surface, se dresser dans l'air », et donner (j'abrège la citation) des rameaux de *P. cladosporioides*.

En sorte que, semée sur un milieu identique, la même plante, suivant qu'on prendrait une de ses formes ou l'autre, donnerait deux choses absolument différentes, et cela d'une façon définitive, car, d'après l'auteur lui-même,

reux, qui pousse sur tous les milieux avec une rapidité extrême, s'introduit dans les cultures comme impureté fréquente, et, quand il est semé sur milieu convenable (gélatine par exemple), y prolifère avec une grande intensité, donnant par milliers des conidies qui, à peine détachées, prolifèrent à leur tour et bourgeonnent abondamment, une seule remplissant parfois en vingt-quatre heures le champ du microscope dans les cultures en cellule.

Le mot s'applique sans doute au mode de multiplication en levure, considéré comme inférieur. Mais ici ce n'est pas, on l'a vu, une vraie végétation en levure.

(1) Laurent, *loc. cit.*, p. 583.

(2) *Id.*, *ibid.*, p. 562.

les formes-levures ressemées à l'infini donnent toujours le *Dematium pullulans*, et les spores de *Cladosporium* bien typiques donnent, on vient de le voir, la forme la plus différenciée du *Cladosporium*, c'est-à-dire le *Penicillium* (*Hormodendron*) *cladosporioides*.

N'est-il pas plus vraisemblable d'admettre que, comme dans mes propres cultures au début, et comme le *modus faciendi* de l'auteur permet de le penser, il y a eu parfois mélange de quelques formes-levures avec les filaments ou les conidies du *Cladosporium*, ou encore qu'en semant, en bouturant si l'on veut, sur la gélatine, un fragment non conidifère de mycélium, on a semé du *Dematium* véritable, dont le développement ultérieur s'explique dès lors parfaitement? L'hypothèse est en tout cas vraisemblable.

Une autre sorte de démonstration qui semble péremptoire est la transformation directe d'une des plantes dans l'autre, sous l'influence de certains agents physiques.

Laurent a vainement essayé des cultures en milieux très pauvres (acétates), qui auraient dû, semble-t-il, agir efficacement, si, en effet, le *Dematium* était une forme affaiblie du *Cladosporium*. La chaleur n'a rien changé non plus. Mais il aurait réussi par l'insolation prolongée.

Dans des tubes de moût, on sème des spores de *Cladosporium*, et, après exposition au soleil, en serre, pendant un temps plus ou moins long, suivant la saison, on ajoute du moût sucré : l'on voit bientôt les tubes restés longtemps au soleil donner du *Dematium* en flocons dans le liquide, tandis que les tubes peu ou pas insolés montrent du *Cladosporium* en couche épaisse à la surface. En prolongeant longtemps l'insolation, on arrive à des colonies de *Dematium* de plus en plus faibles, presque sans filaments, uniquement en levures, analogues à la levure de bière, et enfin la plante meurt après un temps variable, suivant l'intensité des rayons.

L'obscurité prolongée (six mois) aurait aussi donné, dans

certaines cultures de *Cladosporium*, du *Dematium* avec formes-levures.

Il est regrettable que l'auteur n'ait pas ici indiqué nettement les précautions prises pour s'assurer de la pureté des semis, le mélange accidentel des deux champignons étant à craindre. On sait que le *Cladosporium*, malgré sa forte cutinisation, perd assez vite sa vitalité : de Janczewski dit que la faculté germinative est déjà très affaiblie au bout de trois mois et presque perdue après six mois. L'action de la lumière solaire accélère peut-être cette altération, et l'on s'explique bien qu'au bout de six mois à l'obscurité et de quelques jours au grand soleil le *Dematium* seul se soit développé, si l'on accepte l'hypothèse d'un mélange, et surtout s'il s'était produit des formes kystiques.

Les kystes sont, en effet, très résistants chez cette espèce, puisque Laurent les a trouvés vigoureux après dix mois, et je crois que ce chiffre doit être augmenté (1).

Remarquons, à ce sujet, que dans la nature l'auteur a observé que le *Cladosporium* se trouve surtout à l'ombre et les formes-levures au soleil. Il conclut à une transformation de l'un dans l'autre. Il paraît plus probable que les conditions de vitalité diffèrent chez les deux espèces. Et l'on voit en même temps que le *Dematium pullulans*, déjà trouvé par Pasteur sur les grains de raisin et qu'on rencontre ainsi sur tous les fruits au soleil, n'est point une forme immergée d'un autre champignon.

En réalité, le *Cladosporium* ne résiste pas à une action prolongée du soleil. Le *Dematium* est une autre espèce plus résistante, et la chose est assez singulière, car à considérer les deux ordres de conidies, les unes épaisses et dures, cutinisées, brunes, les autres incolores et délicates, au moins avant leur transformation en hypnospores, on serait tenté d'affirmer une résistance inverse.

(1) Cependant le *Dematium*, qui résiste bien aux agents physiques, comme on le voit, perd quelquefois sa vitalité dans les milieux chimiques dans lesquels il s'est développé.

En tout cas, de Janczewski (1) dit en propres termes à cet égard : « En répétant les expériences de E. Laurent, nous n'avons jamais vu cette forme (*Dematium*) se développer dans les cultures pures du *Cladosporium*. Conservées pendant un an à l'obscurité, ou soumises pendant un mois à l'influence de la lumière, les conidies du *Cladosporium* ne reproduisaient autre chose que la forme et la variété mère. »

A ce témoignage, il me sera permis d'ajouter le mien. J'ai également répété les expériences de Laurent. J'ai le *Cladosporium* en culture depuis environ deux ans. Les tubes conservés dans de hautes boîtes de carton, ouvertes seulement en haut, peuvent être considérés comme à l'obscurité ou à peu près. D'autre part, j'ai insolé des cultures de *Cladosporium* enfermées dans un haut bocal de verre à couvercle, durant plusieurs semaines; ces cultures dans le moût de raisin, le moût de bière, etc., n'ont donné au semis que du *Cladosporium* ou bien se sont montrées stériles, si la faculté germinative était déjà perdue.

Déjà donc, d'après la critique qui précède, il semble qu'on ait le droit de conclure à un mélange accidentel dans les cultures. Cela s'explique d'ailleurs fort bien par la coexistence ordinaire des deux plantes dans la nature et parce que l'une et l'autre peuvent avoir une forme dématioïde stérile très analogue, difficile à distinguer en l'absence des organes conidiens caractéristiques.

Le *Dematium* se présente très souvent sans formes-levures : il devait se trouver à cet état de mycélium banal dans les cultures.

Il reste maintenant à examiner le point le plus délicat de cette question. Si l'on peut montrer des fructifications de *Cladosporium* ou d'*Hormodendron cladosporioides* en continuité avec un filament de *Dematium pullulans* pourvu de formes-levures, il est évident que l'on aura affaire à

(1) De Janczewski, *loc. cit.*

la même plante. Or, Laurent donne une figure où cette continuité est indiquée, et dans le texte l'auteur dit : « En 1886, j'avais fortuitement observé, dans une solution d'acétate de potassium, un *Dematium* dont les filaments se prolongeaient par des appareils conidifères de *Penicillium cladosporioides*. J'étais donc porté à admettre la même origine pour ces deux mucédinées... » (Cette dernière phrase indique que la chose n'était point évidente.) Et plus loin, dans un passage cité déjà, à propos d'un *Dematium* envahissant des cultures de pollen : « Plusieurs mycéliums produisirent des filaments aériens de *Penicillium cladosporioides*. » Mais il n'est pas dit si ces filaments portaient des formes-levures ; ils pouvaient n'être que « dématioïdes » et appartenir au *Cladosporium*.

Reste la figure (fig. 8 du mémoire), figure demi-schématique représentant un rameau avec formes-levures dans une culture sur gélatine, et terminée par un petit bouquet d'*Hormodendron*. Je pense qu'il a dû y avoir là seulement une apparence de continuité, et cela pour plusieurs raisons :

1° L'auteur déclare lui-même le cas très rare : il dit même plus loin que « les formes *Dematium* avec formes-levures sont absolument incapables de reprendre l'état conidifère aérien », et on a vu (p. 214-215) que d'après lui on ne peut passer du *Dematium* au *Cladosporium* ;

2° J'ai vainement cherché dans les cultures sur gélatine ce terme de passage ;

3° De Janczewski, en étudiant l'espèce à son tour, ne signale aucune forme de ce genre ;

4° Je n'ai jamais rien vu dans les cultures de *Dematium* qui rappelât le *Cladosporium*, mais la réciproque n'est pas vraie. Dans certaines cultures de *Cladosporium* (eaux distillées d'oranger, de roses, de tilleul, arséniate de sodium, etc.), la disposition régulière des conidies se modifie (Pl. III, fig. 4 et 5). A côté ou à la place des conidies normales, il en est de latérales plus rares, qui naissent diversement sur les filaments sans former de chapelets, et qui, lorsqu'elles sont

jeunes et blanches, ressemblent quelquefois aux formes-levures du *Dematium* (Voy. p. 146). Elles en diffèrent d'ailleurs profondément par leur taille un peu plus grande, leur nombre toujours beaucoup moindre, leur cutinisation assez rapide et sur place. Enfin, elles ne végètent pas en levure. Peut-être est-ce là une cause de confusion ? J'en doute toutefois, parce que les conidies anormales ne se sont jamais montrées sur gélatine et parce que la figure discutée représente nettement des formes-levures.

Il me paraît probable qu'il y a eu pour ces cultures, quelquefois très enchevêtrées, un mélange accidentel des deux espèces et une apparence de continuité.

De Janczewski, bien qu'il n'ait pas obtenu les mêmes résultats que Laurent en répétant ses expériences, admet cependant l'identification des deux espèces, sans en donner des preuves personnelles.

Il dit, entre autres choses, à propos des spores : « A première vue, les conidies du *Dematium* sont tout autres que celles du *Cladosporium* ou de l'*Hormodendron*. Cette différence, tenant au milieu dans lequel elles se développent, s'efface presque entièrement si l'on compare d'un côté les conidies incolores à peine ébauchées du *Cladosporium* à celles du *Dematium*, et de l'autre les conidies complètement mûres aux hypnospores. » Il est certain que les unes et les autres sont d'abord incolores, puis se cutinisent. Mais c'est là le cas d'une foule de conidies qu'on ne songe pas à rapprocher. Et alors même que la forme et les dimensions réuniraient ces deux ordres de conidies (ce qui n'est pas tout à fait exact, la plupart des spores de *Cladosporium* ayant un aspect tout différent), le mode de formation et surtout le sort ultérieur de ces spores les différencient complètement. Dans les germinations, par exemple, on a vu la spore terminer l'axe du *Cladosporium* jeune, tandis qu'elle est presque toujours plus ou moins latérale dans le *Dematium* : le développement est normalement symétrique chez le premier et irrégulier dans les autres. Enfin, la végétation

en levure du *Dematium* est un point capital qui manque absolument chez le *Cladosporium*. Et, pour s'en tenir à la cutinisation, elle n'est chez les *Dematium* qu'un moyen de défense contre la dessiccation, lorsque la multiplication en levure n'est plus possible. Elle est normale presque en tout milieu, et presque immédiate chez le *Cladosporium*.

De Janczewski a fait de très intéressantes expériences sur l'inoculation du *Cladosporium* sur les végétaux, expériences qui lui ont fait découvrir les périthèces de la plante, longtemps rapportée à tort au *Pleospora herbarum* et qui, en réalité, constitue une espèce nouvelle, le *Sphærella Tulasnei* Jancz. Sans entrer dans le détail de ces expériences qui sortent tout à fait de mon cadre, je ferai remarquer qu'elles n'ont réussi qu'avec les spores de *Cladosporium* dans certaines conditions, et non avec le *Dematium*, cependant beaucoup plus fortement et plus rapidement prolifique. Cette différence nouvelle devait être notée.

Mais il importe surtout de comparer les modifications apportées par les milieux.

Dans des expériences comparatives avec chiffres très précis, Laurent montre que dans deux liquides nutritifs identiques, mais où l'azote est fourni en même quantité, dans l'un par du nitrate de soude et dans l'autre par du sulfate d'ammoniaque, le *Cladosporium* préfère les nitrates, la forme-levure le sulfate d'ammoniaque. En semant cette dernière sur les deux milieux, il obtient : sur le milieu nitrique, des filaments dématioïdes dominants ; dans la solution ammoniacale, des levures presque seules. Ces modifications ne sont pas surprenantes, et j'en ai trouvé bien d'autres au cours de ces recherches ; mais s'il n'y avait là que deux formes de la même espèce, chacune préférant un des milieux, elles passeraient de l'une à l'autre, suivant le semis : le *Cladosporium* semé dans la solution ammoniacale s'y serait développé en levure, et inversement les levures dans la solution nitrique auraient dû donner du *Cladosporium*. Or, il est dit seulement qu'ils végètent mal dans le milieu qu'ils

aiment moins, mais il n'est pas question de transformation morphologique.

Il me semble qu'un argument essentiel contre l'identification des deux espèces doit être tiré de cette comparaison de l'ensemble et du détail des cultures. Les deux plantes que j'ai étudiées répondent chacune à la description donnée par Laurent pour ses deux formes. Je les ai cultivées à l'état de pureté dans les conditions les plus diverses. Sur certains milieux nutritifs, et particulièrement sur le milieu-type (pomme de terre acide), les ensemencements ont été multiples et successifs, de sorte que si l'une des deux espèces eût été une forme *affaiblie*, elle aurait pu, au bout de quelques générations, se modifier et reprendre ses caractères de vigueur primitive. Si donc les deux plantes n'en font qu'une, elles doivent, sur des milieux identiques et dans des conditions identiques, prendre des caractères identiques. Tel milieu, semé avec les deux formes, devra, par exemple, donner du *Dematium*, tel autre du *Cladosporium*, etc.

Or, c'est ce qui n'arrive point. Chaque espèce a sur chaque milieu sa manière d'être, profondément distincte, tant par la structure microscopique que par l'aspect extérieur lui-même. Je ne puis revenir ici sur le détail de ces différences, mais l'étude faite plus haut avec soin de ces deux espèces montre amplement combien elles diffèrent. Dans aucun des liquides employés il n'y a identité, ni même ressemblance ; dans aucun des quatre-vingt-dix milieux, le *Cladosporium* ne s'est transformé en *Dematium* ; dans aucun, le *Dematium* n'a montré la moindre spore de *Cladosporium*. Quelques phénomènes de même ordre se sont produits, comme la formation de *fumago*, par exemple, et ont pu s'effectuer sous l'influence d'un milieu analogue (liquide de Raulin, etc.), mais c'est là un phénomène de convergence, sans aucune identité. Presque toujours, dès le premier regard sur les tubes, on constate des différences profondes ; et si l'aspect se rapproche, si, par exemple, les deux champignons ont recouvert avec le temps la surface du liquide ou

de la pomme de terre d'une couche noire mince uniforme, ou ont développé dans le tube quelques flocons blancs ou noirâtres, il suffira d'un coup d'œil au microscope pour constater la distinction absolue.

On trouve aussi quelques différences plus générales : par exemple, les semis de *Dematium* se développent volontiers dans des milieux acides, ceux du *Cladosporium* préfèrent les milieux neutres et basiques. L'examen des cultures dans les acides glycérophosphorique, gallique, tartrique, etc., et dans la soude, par exemple, donne à cet égard des renseignements remarquables. Il semble difficile que deux formes de la même plante offrent dans le même milieu un développement aussi différent. A la surface de la gélose, l'un donne immédiatement une végétation noire, l'autre une culture blanche ou blanc rosé, humide, ayant l'aspect d'une colonie bactérienne, etc. On peut ainsi passer en revue tous les milieux employés ; les uns ne présentent même pas de végétation avec une espèce, tandis que l'autre y prospère (acides sulfurique, tartrique, glycérophosphorique, cocaïne) ; d'autres ont un aspect tout différent, soit d'une façon constante, soit pendant les premiers temps du développement ; d'autres, enfin, finissent sans doute par se ressembler un peu (eau distillée, gomme, etc.); mais le microscope les sépare aussitôt sans difficulté, à moins toutefois qu'il ne s'agisse de formes stériles à filaments purement dématioïdes. Et, même dans ce cas, la confusion est rare, et les semis sur milieu-type décident toujours facilement.

En somme, pour Laurent, le *Cladosporium herbarum* offre les formes suivantes :

1° *Cladosporium herbarum* (type naturel);
2° *Penicillium cladosporioides* (*Hormodendron* actuel);
3° *Dematium pullulans* sans forme-levure;
4° *Dematium pullulans* avec forme-levure ;
5° Forme-levure blanche et torulacée de Pasteur;
6° Forme-levure rose;

7° *Fumago :* état d'enkystement commun aux cinq premières formes.

Et il ajoute que les n°s 1, 2, 3 constituent un premier groupe à conidies aériennes; celui-ci ne peut donner le deuxième groupe (4, 5, 6) que si l'organisme est affaibli; le deuxième groupe ne peut revenir au premier.

Je crois plus exact de dire : les n°s 1 et 2 constituent une espèce : le *Cladosporium herbarium*; les n°s 4, 5, 6 en forment une autre : le *Dematium pullulans* ; les n°s 3 et 7 sont des formes stériles, qui peuvent se ressembler dans les deux espèces, et qu'on classera dans l'une ou dans l'autre, suivant que les cultures y auront fait développer tel ou tel ordre de conidies.

IX. — RÉSUMÉ

Les formes mycéliennes bourgeonnantes paraissent être communes à plusieurs champignons (p. 167).

L'espèce étudiée ici semble être celle décrite par Lœw, Laurent et de Janczewski (p. 169).

Aucun des modes de reproduction (formes-levures, conidies, chlamydospores, etc.) n'est suffisant pour indiquer la place exacte dans la classification (p. 170).

L'espèce est fréquente dans les solutions (p. 171).

Elle est très résistante, et conserve sa vitalité dans la plupart des milieux. Dans les solutions chimiques, la végétation est plutôt faible (p. 172).

Les milieux acides lui sont favorables (p. 172).

L'aspect des cultures varie depuis le dépôt dissocié, blanc ou coloré, jusqu'à la membrane noire, épaisse, émergée, ou au flocon brun ou gris flottant dans le liquide (p. 173).

La germination sur eau de pomme de terre se fait rapidement, et amène la formation d'un filament qui donne aussitôt des conidies formes-levures; celles-ci bourgeonnent immédiatement en levure. Sur gélatine nutritive, ce bourgeonnement est d'une activité remarquable (p. 175, 180).

La cutinisation arrive plus tard : elle est d'ordinaire en rapport avec la dessiccation (p. 178).

Les formes-levures bourgeonnantes peuvent être considérées comme des mycéliums unicellulaires (p. 177).

Sur le tissu de la pomme de terre, la reproduction se fait d'abord en levure, puis ces levures grossissent et s'enkystent, ou noircissent en se transformant en une végétation fumagoïde (p. 179).

Les filaments formés peuvent se désagréger et végéter dès lors en levure (p. 178).

Des modifications à ces germinations sont parfois obtenues en employant divers milieux (p. 180, etc.).

Sur le milieu-type, après un temps assez long, les formes produites sont très diverses, et se rencontrent alors simultanément. Ce sont des levures, des filaments mycéliens, des végétations fumagoïdes, des chlamydospores, avec de très nombreux intermédiaires (p. 186).

Les modifications morphologiques portent sur toutes les parties de la plante (p. 187).

Les conidies formes-levures peuvent abonder ou manquer totalement. On ne les trouve parfois qu'au début du développement. Elles germent en levures ou en mycélium (p. 187).

Cette levure n'amène aucune fermentation du glucose (p. 188).

Elle résiste quelquefois très bien aux milieux (p. 189).

Elle est parfois le seul procédé de multiplication.

Elle se cutinise généralement au bout de quelque temps (p. 189).

Le mycélium cutinisé peut prendre l'aspect cladosporioïde : mais il ne donne pas de *Cladosporium* vrai (p. 192).

Le mycélium peut être entièrement incolore (ferrocyanure, etc.) (p. 193).

La gélification est fréquente et se présente sous des formes variées. Elle est parfois poussée à l'extrême (p. 193).

Le mycélium cutinisé ou non est quelquefois tout à fait stérile (p. 194).

D'autres fois, il présente des bourgeons ou des éléments qui font passer à la conidie et à la chlamydospore (p. 194).

L'espèce étudiée est particulièrement remarquable par l'abondance et la variété des formes fumagoïdes qu'elle présente (p. 197).

L'aspect fumagoïde peut être donné aux cultures par (p. 197) :

a. La cutinisation des levures ou des conidies ;

b. La séparation des articles terminaux ou intercalaires des filaments cutinisés ;

c. Le développement en petits groupes courts ou sphériques cloisonnés dans deux directions.

Dans les formes fumagoïdes, la cutinisation atteint souvent un degré considérable (p. 198).

La sortie de la sphère cellulaire intérieure est très fréquente (p. 193).

Les éléments fumagoïdes peuvent atteindre une grande taille (p. 198).

Les végétations fumagoïdes sont fournies par des milieux très divers, et avec des caractères spéciaux à chacun d'eux (liquide de Raulin, arséniate de sodium, acides gallique, citrique, tartrique, eau glycérinée, glycérophosphates, dextrine, gomme, etc.) (p. 199).

En imprégnant de divers liquides des milieux solides nutritifs ou non, on voit que ces milieux agissent en modifiant l'action du liquide lui-même (p. 209).

Le *Cladosporium herbarum*, réuni d'ordinaire au *Dematium pullulans*, doit en être séparé : les deux espèces se sont montrées différentes et d'ordinaire profondément, dans toutes les cultures pures et dans tous les milieux (p. 211).

Il existe seulement de nombreuses formes stériles très analogues d'aspect et appartenant soit à l'une, soit à l'autre. Le *Cladosporium*, en particulier, a souvent des formes dématioïdes (p. 214).

Toutes les tentatives pour passer directement de l'une à l'autre de ces deux espèces ont complètement échoué (p. 214 et suiv.).

ACTION GÉNÉRALE DES MILIEUX EMPLOYÉS

Résumons maintenant l'action des milieux employés dans cette étude, sur les Dématiées spécialement observées, ou sur l'ensemble des champignons mis en expérience, en recherchant soit les faits généraux, soit la caractéristique particulière de chacun de ces milieux.

Pomme de terre acide. — Le meilleur milieu pour l'ensemble des champignons. Le *Cladosporium herbarum*, très sensible aux acides, y vient mal. Les autres y prennent tous leurs caractères et fructifient bien. Formes d'ordinaire multiples.

Carotte. — Très analogue. Toutes les espèces y poussent.

Bois. — Les Dématiées surtout s'y développent bien.

Les autres **milieux nutritifs solides**, tels que la **gélose**, la **gélatine**, etc., donnent des résultats rapides, mais semblent en général s'épuiser vite. Les filaments mycéliens y sont souvent pâles ; les cultures anciennes perdent assez rapidement leur vitalité (surtout sur la gélose), et ne contiennent guère de spores ; on y trouve plutôt des renflements mycéliens abondants ou des chlamydospores. Les espèces qui produisent des levures y végètent volontiers sous cette forme. En somme, cutinisation faible, bien que l'ensemble paraisse fréquemment noirâtre ou brun dans les cultures âgées.

Bouillon peptonisé. — Résultats analogues.

Mannite (1). — Bon milieu pour la plupart des champignons qui y forment d'habitude des flocons incolores ou colorés en suspension dans le liquide, ou plus rarement en

(1) Pour les doses des solutions, voy. p. 12 et 13.

partie émergés. Certaines levures colorées s'y conservent très bien et s'y multiplient sous forme d'un abondant dépôt au fond du liquide limpide. Les mycéliums y sont souvent irrégulièrement toruleux.

Le *Cladosporium herbarum* s'y développe moins bien que les autres Dématiées, et d'autant moins que la solution est plus riche. Les autres poussent bien et semblent au contraire préférer les solutions concentrées.

Partout le champignon est noir ou gris foncé et forme une membrane superficielle et des flocons suspendus. Le liquide est toujours limpide. Au microscope, les filaments mycéliens ont souvent sur ce milieu des caractères spéciaux indiqués à propos des diverses espèces.

Dextrine. — Surtout en solutions concentrées, elle donne de bons résultats. La plupart des champignons y conservent leurs couleurs et y forment des végétations abondantes. Plusieurs levures s'y multiplient en un dépôt épais et coloré. Souvent, grosses gouttes d'huile (*Mucor*, *Cephalothecium*, etc.). Toutes les espèces semées sont restées vivantes après plusieurs mois.

Les Dématiées y poussent avec vigueur en membranes épaisses remontant sur les parois et en points noirs immergés appliqués sur le verre. La teneur en dextrine influe beaucoup. Le champignon est plus abondant dans la solution à 20 p. 100 que dans celle à 5 p. 100. Cutinisation très forte, membrane épaisse et résistante ; éclatement fréquent avec sortie de la cellule hors de la cuticule.

Gomme. — Se rapproche beaucoup de la dextrine : végétation abondante ; vitalité longue ; cutinisation un peu variable, moindre qu'avec la dextrine à temps égal. Les solutions moyennes paraissent les plus favorables, mais toutes donnent de bons résultats. Organes reproducteurs d'ordinaire bien développés. Sortie de la cellule fréquente.

Liquide de Raulin. — En général, les champignons y prospèrent. Les Dématiées, cependant, bien qu'elles forment quelquefois des membranes épaisses, végètent peut-être

moins vigoureusement que d'autres. Le *Cladosporium* (1) et le *Dematium pullulans* y prennent de curieuses formes fumagoïdes.

Eau glycérinée. — Bon milieu aussi. Tendance à la production de végétations fumagoïdes chez les *Alternaria* et le *Dematium pullulans*. En général, épaisses membranes et flocons dans le liquide.

Eau pure. — L'eau distillée semble dépourvue de tout pouvoir nutritif. L'on est surpris pourtant de voir que presque toutes les espèces y poussent. D'ordinaire, la croissance s'arrête bientôt. Chez les Dématiées, il se forme des flocons, abondants surtout pour le *Cladosporium*, mais assez développés aussi pour les *Alternaria*. Ces flocons sont légèrement brunâtres et les cellules mycéliennes souvent cutinisées. Il se produit même presque partout des spores caractéristiques.

Eaux distillées. — On sait avec quelle facilité les champignons envahissent les essences connues sous le nom d' « eaux distillées » ; les pharmaciens ont d'ordinaire grand'peine à les garder intactes. Les propriétés antiseptiques que l'on attribue aux essences se font donc faiblement sentir à cette dose (2). Il faut mettre à part l'eau de laurier-cerise, que je n'ai pas employée, et l'eau de cannelle : chez celle-ci, aucun champignon ne s'est maintenu vivant ; quelques-uns (*Cladosporium*, *Dematium*, un *Alternaria*, *Sterigmatocystis nidulans*, *Trichoderma viride*) y ont un peu poussé, puis ont rapidement péri. Les autres sont morts immédiatement. C'est un résultat à retenir au point de vue de l'antisepsie. Du reste, l'eau de cannelle n'est presque jamais envahie dans les pharmacies (3).

(1) Laurent dit cependant (*loc. cit.*), que le *Cladosporium* y croît assez bien sans présenter de caractère particulier. J'indique, sans l'expliquer, cette différence dans nos résultats.

(2) Pourtant, Soubeiran avait déjà fait la remarque que les eaux distillées inodores s'altéraient beaucoup plus rapidement que les autres.

(3) Une eau de cannelle m'a cependant donné au semis le *Penicillium glaucum*, un *Mucor* et une forme-levure.

La cannelle mise à part, les eaux distillées ont toutes présenté une certaine analogie d'aspect : flocons plus ou moins abondants, immergés dans le liquide ou au fond, rarement étalés à la surface et dans ce cas plus fertiles. Ensemble des végétations plutôt faible. En général, mycélium assez régulier, pâle : les Dématiées elles-mêmes sont souvent d'apparence blanchâtre, toujours un peu plus foncées que les autres cependant. L'eau de rose, de menthe, colorent peu. Dans le tilleul, la cutinisation est souvent plus forte. En général, le *Cladosporium* est ici plus résistant et plus développé que le *Dematium*. Dans l'eau de tilleul, par exemple, il est le seul qui soit cutinisé un peu fortement. Dans l'eau de menthe, la chose est plus nette encore. On a vu que la formation des spores de cette espèce est modifiée par cet ordre de milieux.

Milieux acides. — D'une façon très générale, les champignons préfèrent les milieux légèrement acides, mais on trouve des exceptions ; des genres ou même des espèces voisines paraissent avoir des préférences fort diverses à cet égard. La réaction acide au tournesol est une cause importante de variation. La plupart des espèces ont refusé de pousser dans les solutions franchement acides ; d'autres y sont mortes après y avoir plus ou moins végété ; d'autres enfin s'y sont bien développées.

A la condition que l'acidité ne dépasse pas une certaine limite, ces milieux conviennent en général aux Dématiées. On trouve à cet égard pourtant des différences très nettes. Ainsi, le *Cladosporium herbarum* et le *Dematium pullulans* que l'on a voulu identifier, se comportent d'une façon tout à fait opposée. Le premier ne pousse dans aucun acide, ou, s'il y pousse, périt rapidement ; il s'accommode au contraire de la soude à 1 p. 100, fatale à la plupart des espèces. Le second se développe dans tous les milieux acides (acide sulfurique à 1 p. 100, etc.) et s'y conserve très vivant après plusieurs mois.

Les *Alternaria* n'acceptent que des doses faibles.

J'ai cherché à me rendre compte de l'influence de la proportion d'acide sur le développement des Dématiées. Pour cela, j'ai suivi, en même temps et dans des conditions tout à fait identiques, les quatre espèces étudiées sur des pommes de terre inégalement acides, et stérilisées, soit après avoir séjourné dans de l'eau contenant une proportion d'acide variable, soit après être restées plus ou moins longtemps dans un liquide à proportion fixe d'acide (1). Savoir :

1/4 d'heure	dans une solution à	1 p. 100	d'acide sulfurique pur.
1/2 heure	—	1 p. 100	—
1 heure	—	1 p. 100	—
2 heures	—	1 p. 100	—
1/4 d'heure	—	2 p. 100	—
1/4 —	—	5 p. 100	—

En résumant les résultats de cette expérience, on peut dire que :

I. — Le *Dematium pullulans* n'est aucunement gêné par l'acidité. C'est la seule des quatre espèces qui ait poussé partout tout de suite.

Le champignon croît en levure d'abord, puis la cutinisation des levures se produit et la culture devient d'un noir verdâtre. Cette transformation est d'autant plus rapide et d'autant plus complète que l'acidité est plus forte (sauf une seule exception, où la présence fortuite d'une bactérie a semblé hâter beaucoup la transformation en fumago). Sur les fragments très acides, le noircissement commence au bout de quarante-huit heures. Chez les autres, il demande plusieurs jours (8 à 10).

La levure fonce même quelquefois sans noircir.

Sur le fragment acidifié par 5 p. 100 d'acide, végétation

(1) J'avais craint que la saccharification de l'amidon ne se produisît, dans ces conditions, en proportions diverses et ne troublât l'expérience. La recherche du glucose sur la pomme de terre ainsi traitée a été négative. Seule, la pomme de terre ayant séjourné dans la solution à 5 p. 100 a présenté des traces de glucose. D'ailleurs, la saccharification par les acides n'étant qu'un phénomène d'hydratation, l'acidité du milieu serait restée la même : mais le glucose produit aurait pu agir comme milieu favorable.

retardée : les levures se montrent au bout de trois jours et en même temps apparaît le fumago jaune verdâtre, qui bientôt forme de petits grains vert noirâtre, ayant sur la pomme de terre l'apparence de petits Nostocs.

Au microscope, on aperçoit quantité de levures, mais celles-ci ont grande tendance à former des filaments courts et épais dont les cellules, d'abord blanches, deviennent rapidement jaunes, puis verdâtres, et constituent la végétation nostocoïde.

II. — L'*Alternaria polymorpha* supporte moins bien l'acidité. Il ne pousse bien ni sur le milieu à 5 p. 100, ni sur celui qui a séjourné deux heures dans l'acide à 1 p. 100. Il semble même n'y pas pousser du tout. Cependant, au bout de plusieurs semaines (3 ou 4, suivant la saison), il se développe sur la pomme de terre une végétation rouge ou rose uniforme, constituée par des levures grossies et germant en un mycélium incolore et stérile, qui parfois forme un tomentum blanc superficiel. Les autres milieux donnent bien le type avec ses caractères et sa variété de couleur. Mais le séjour d'une heure dans l'acide à 1 p. 100 affaiblit la végétation. Des pycnides, blanches, puis jaunes, puis noirâtres, se forment bientôt partout où le champignon pousse bien, mais les formes du mycélium durable ne se montrent, même tardivement, que si l'acidité est faible (1 p. 100 un quart d'heure, et déjà moins dans 1 p. 100 une demi-heure).

III. — L'*Alternaria varians* semble aussi diminuer de vitalité quand l'acidité augmente. Sur la pomme de terre ayant séjourné un quart d'heure ou une demi-heure dans l'acide à 1 p. 100, la vigueur est très grande (au point que dans un tube contaminé fortuitement par un *Penicillium*, l'*Alternaria* a complètement submergé celui-ci). Mais le séjour d'une heure dans l'acide arrête absolument la végétation de cette espèce; *à fortiori* deux heures, et plus encore la solution à 5 p. 100.

Si la plante pousse, elle offre les caractères extérieurs qu'elle a normalement sur le milieu.

IV. — Enfin le *Cladosporium herbarum*, que l'on sait déjà être sensible aux acides, n'a poussé que dans les milieux peu acides et très lentement (12 ou 15 jours après, sans étuve).

L'expérience montre que la pomme de terre ayant séjourné un quart d'heure dans une solution à 2 p. 100 d'acide est tout à fait comparable à celle qui a macéré une demi-heure à 1 p. 100. Pour les quatre espèces, la ressemblance est complète. L'acidité des deux milieux doit être identique. 1 p. 100 pendant deux heures donne plus d'acidité que 2 p. 100 pendant un quart d'heure, et moins que 5 p. 100 pendant un quart d'heure.

Si, maintenant, on examine certains milieux acides en particulier, on pourra constater quelques faits intéressants : c'est d'abord la tendance du *Dematium* à prendre sur les acides des formes fumagoïdes; c'est la propriété spéciale de l'*acide gallique* de produire des cellules enkystées avec les espèces les plus diverses ; c'est la difficulté que les champignons éprouvent à se développer dans l'*acide glycérophosphorique*, tandis que les *glycérophosphates* sont pour eux des milieux excellents, etc.

Acide tartrique. — Résultats médiocres : tartrates non essayés : ils doivent constituer de bons milieux, car les solutions d'émétique sont, malgré leur toxicité, très facilement envahies par les végétations.

Acide citrique. — Donne, lui aussi, à plusieurs champignons des formes enkystées fumagoïdes.

Acide borique. — Il contient souvent des végétations. Récemment M. Guéguen a montré de nouveau que son pouvoir antiseptique était absolument nul, ainsi qu'on le pensait depuis déjà longtemps, et que le développement des champignons sur des milieux boriqués est à peu près normal, quelle que soit la proportion employée. Cependant, je dois dire que la plupart des espèces semées sur ce milieu y sont mal venues. Le *Sterigmatocystis nigra*, le *Penicillium*, etc., y poussent, mais médiocrement, les Dématiées bien moins que dans les autres acides. Les végétations y sont faibles ou nulles, ou

souvent stériles. Évidemment, ce n'est pas un toxique puissant, mais ce n'est pas non plus un milieu favorable. Mêlé à un substratum nutritif, il n'en empêche pas sensiblement l'action, mais les semis dans la solution pure périssent d'ordinaire assez vite (9 espèces sur 14 essayées), ce qui n'a pas lieu dans l'eau distillée.

En semant les végétations de l'acide borique des pharmacies, j'ai obtenu chaque fois le *Penicillium*, assez souvent des levures colorées, et enfin un *Cephalosporium*.

Acide gallique. — Un des milieux des plus intéressants à cause des formes de convergence qu'il détermine chez les champignons les plus divers et qui se traduisent par : fragmentation du mycélium, ou plutôt végétation en cellules séparées ou en courts filaments ; épaississement de la paroi ; coloration du contenu. Le liquide brunit souvent aussi avec certaines espèces (*Sterigmatocystis nidulans*, *Dematium pullulans*), tandis qu'il reste clair avec d'autres très voisines (*Sterigm. nigra*, etc.).

L'enkystement est un phénomène commun, dans ce milieu, aux espèces les plus diverses : ainsi le *Sterigmatocystis nidulans* en offre une forme très curieuse; ainsi les chlamydospores que forme le *Trichoderma viride* ont leur paroi très épaissie, etc., etc.

Pour les Dématiées, l'*acide gallique* a été essayé à diverses doses et en imprégnation sur milieux solides. A l'exception du *Cladosporium*, ces plantes donnent, comme on le sait, une végétation enkystée, souvent fumagoïde, formant d'ordinaire un dépôt peu abondant au fond du tube de culture. Elles poussent d'ailleurs assez mal, mais à peu près toutes conservent leur vitalité, grâce à cet enkystement.

L'*Alternaria varians* et le *Dematium pullulans* sont les plus vigoureux. Le développement est plus grand pour les faibles doses (0,5 p. 100) que pour les autres (1 p. 100, etc.).

Le liquide est toujours coloré, mais la culture du *Dematium* donne une solution foncée, brune ; la teinte est jaune chez les autres.

Sur les milieux solides imprégnés, le *Cladosporium* est aussi le moins vigoureux des quatre, et l'on observe des différences dans la coloration du liquide et du bois. L'*Alternaria varians* forme sur le bois un tomentum gris qui manque chez les autres, mais est assez normal chez cette espèce.

J'ai essayé plusieurs milieux contenant de l'**acide phosphorique** sous diverses formes (*lactophosphate de calcium*, *phosphate acide de sodium*, *glycérophosphates monosodique et disodique*, etc.). Toutes ces solutions ont donné d'excellents résultats, et tout spécialement les deux dernières, qui contrastent par la vigueur ordinaire de leur végétation avec l'*acide glycérophosphorique* seul. Les champignons y conservent d'ordinaire leurs caractères de coloration, tandis que dans le *lactophosphate* la teinte (sauf pour les Dématiées) est plus ou moins blanche. Le *phosphate acide de sodium* est déjà moins bon, les végétations y sont médiocres, quelques-unes malingres et décolorées, même les Dématiées, qui sont pourtant mieux traitées.

Les plus intéressants des milieux à acide phosphorique sont les *glycérophosphates mono- et disodique*. Tous deux sont très favorables aux Dématiées, qui y poussent abondamment avec une couleur foncée.

Du reste, les quatre espèces étudiées se ressemblent beaucoup comme aspect extérieur dans ces milieux : la végétation est immergée, colorée, le liquide limpide et incolore, les filaments en flocons ou en membranes, généralement très fertiles. Peut-être le sel monosodique est-il plus favorable que le disodique. C'est une différence peu sensible. Comme partout, la végétation de l'*Alternaria polymorpha* est moins colorée que les autres ; c'est ce que montrent en particulier les corps solides (bois, éponge) imprégnés de glycérophosphate monosodique.

Par opposition aux milieux acides, la **soude** à 1 p. 100, milieu évidemment très mauvais, a confirmé la différence entre le *Cladosporium herbarum*, une des rares

espèces qui y ont poussé, et le *Dematium pullulans*, bientôt disparu. Les *Alternaria* n'ont même pas commencé à végéter : même à 0,25 p. 100, aucun développement ne se fait.

Acétate de sodium. — Milieu pauvre, et, en somme, défavorable. Il a cependant donné quelques résultats intéressants. D'abord les champignons y poussent mal, il est vrai, mais ils y poussent, et d'ordinaire y conservent assez longtemps leur vitalité. De plus, nombre d'espèces s'y développent en un mycélium moniliforme, toruleux. La plupart des cellules sont renflées, souvent sphériques, gonflées ou non par de gros globules graisseux. Il existe pourtant quelques différences : ainsi le *Dematium pullulans* s'y multiplie seulement en levure et ne se colore pas. Les autres Dématiées sont colorées, mais assez faiblement, surtout le *Cladosporium*. L'*Alternaria varians* paraît le plus vigoureux partout.

Les cultures ont été faites sur des solutions à trois titres : 1 p. 100, 5 p. 100, 10 p. 100. L'acétate de sodium ne s'est opposé à la végétation à aucune de ces doses, mais la proportion moyenne de 5 p. 100 a été préférée par toutes les espèces. Les cultures sur milieux solides imprégnés d'acétate ont confirmé les résultats ci-dessus. Maximum de vigueur pour les *Alternaria*, puis vient le *Cladosporium* et, enfin, le *Dematium*, toujours faible et en levure.

Sulfate de magnésium. — Flocons blancs pour diverses Mucédinées (*Sterigmatocystis*, *Acrostalagmus*, *Cephalosporium*, etc.); bruns ou gris pour les Dématiées, qui y prospèrent mieux en général. Cependant, le *Dematium* y vient mal.

Alun. — Quelques végétations nuageuses blanches (*Sterigmatocystis nigra*, *Cephalosporium*, *Acrostalagmus*, etc.). Les Dématiées ne s'y cutinisent pas. C'est l'*Alternaria polymorpha* qui s'en accommode le mieux.

Chlorure de baryum. — Le *Cephalosporium*, l'*Acrosta-*

lagmus, et quelques Dématiées entourent le semis d'un petit flocon blanc stérile. Souvent formes de dégénérescence.

Ferrocyanure de potassium. — Milieu très défavorable : les Mucédinées n'y donnent rien ou un faible dépôt dissocié. Les Dématiées y poussent quelquefois, mais restent stériles et incolores : ce sont là les deux caractères principaux.

Chlorure d'ammonium. — Lorsque les semis y poussent, les filaments ne se cutinisent pas et restent stériles.

Les *Alternaria* sont seulement un peu plus vigoureux.

Chlorure, bromure, iodure de sodium. — Il était intéressant de faire varier l'acide dans trois sels halogénés de la même base, afin de voir le rôle de l'acide. Sur les mêmes champignons, ces solutions offrent à dose égale des différences très nettes. Le *bromure* s'est montré le meilleur milieu pour les Dématiées : la plupart y sont brunes, sauf le *Dematium* resté incolore et l'*Alternaria polymorpha*, qui s'est peu coloré. Le *chlorure* est venu ensuite : le *Cladosporium* seul y est brun, les autres ont des flocons immergés blancs, et se colorent seulement hors du liquide ; le *Dematium* y pousse en levure. Enfin, l'*iodure* est le plus mauvais des trois : le *Cladosporium* forme quelques granulations sur la paroi du tube, l'*Alternaria polymorpha* donne un flocon immergé blanc sale, le *Dematium* et les autres ne poussent plus du tout (1).

Les mêmes différences se trouvent pour les Mucédinées et les formes-levures cultivées dans ces trois milieux.

Chlorures de sodium, d'ammonium, de baryum. — Si l'on fait maintenant varier la base, les modifications paraissent moindres. Des trois sels essayés ici, et qui, je le reconnais, sont insuffisants pour conclure et pour généraliser, c'est le sel de baryum qui a donné les solutions les moins favorables : c'était du reste un résultat à prévoir.

(1) M. Guéguen vient de constater que le bichlorure de mercure était quatre fois moins toxique que le biiodure pour le *Penicillium glaucum* (*loc. cit.*).

Les **liqueurs arsenicales** devaient être essayées, car c'est chez elles qu'on trouve le fameux *Hygrocrocis arsenicus,* point de départ de divers travaux sur la question. J'ai pris l'*arséniate de sodium* à 1 p. 1 000 et l'*arsénite de potassium* (liqueur de Fowler), ce dernier sel à plusieurs doses. L'*arséniate de sodium* est un mauvais milieu, mais à cette dose faible quelques espèces (*Cephalosporium*, *Acrostalagmus*, *Cladosporium*, *Dematium*, etc.) y donnent un flocon blanc ou gris, d'autres un dépôt granuleux. La *liqueur de Fowler* ne forme de végétation appréciable qu'avec trois ou quatre espèces.

En outre, tandis que dans l'arséniate de sodium huit espèces ont conservé leur vitalité et ont reproduit le type au semis de contrôle, le fait ne s'est pas produit une seule fois pour l'arsénite de potassium : les champignons qui s'y sont un peu développés y sont morts au bout de quelque temps.

En ce qui concerne les Dématiées semées dans la liqueur de Fowler, quelques rares flocons très petits et stériles, ou quelques nuages de levure, sont tout ce que l'on observe, même après un temps très long : encore ces éléments sont-ils sans vie. Si l'on diminue la teneur du liquide en arsénite de potassium (dilution à 1/2), les semis s'entourent de quelques filaments blancs. Si l'on augmente au contraire cette teneur, on n'obtient plus aucune végétation.

Il est à remarquer que le *Cladosporium* ne se développe pas du tout dans ce milieu. C'est ce qu'a aussi indiqué M. Guéguen, quand il a dit que dans la liqueur de Fowler le *Penicillium* avait poussé quelques filaments, tandis que les spores d'*Hormodendron* ne donnaient rien.

En somme, je n'ai pu faire développer artificiellement d'*Hygrocrocis* sur la liqueur de Fowler, avec aucune des espèces essayées.

Ce résultat peut paraître singulier, étant donné que l'*Hygrocrocis* classique est une Dématiée et sans doute une forme du *Cladosporium* (1). Mais je ne puis que le consigner ici

(1) Voy. p. 124. Voy. aussi la figure donnée par Marchand dans sa *Botanique cryptogamique.*

sans l'expliquer. D'ailleurs, j'ai trouvé partout dans les liqueurs de Fowler des pharmacies des filaments blancs avec quelques fragments de Dématiées peu reconnaissables, mais j'avoue n'avoir jamais pu voir une végétation bien caractérisée, bien cutinisée, typique.

Alcaloïdes. — Je n'en ai employé que deux : le *sulfate de quinine* à 1 p. 100 et le *chlorhydrate de cocaïne* à 1 p. 100. En général, les moisissures s'y développent assez bien; les levures y forment un dépôt, les autres des flocons; la cutinisation y est faible, et les végétations d'ordinaire blanchâtres ou peu colorées. Bien des champignons n'y forment qu'un mycélium stérile.

Le *Cladosporium* est une des espèces les plus réfractaires, qui s'est mal développée dans la *quinine* et presque pas dans la *cocaïne*. Le *Dematium* est plus abondant, l'*Alternaria polymorpha* paraît être le plus vigoureux des quatre, surtout dans la quinine, où il a des caractères intéressants.

Créosote et Gaïacol. — Ces milieux, donnés comme de bons antiseptiques, ne se sont pas opposés en général au développement des champignons. Mais la couleur manque souvent et les végétations sont ordinairement stériles. Des expériences de M. Guéguen sur le gaïacol, avec le *Penicillium glaucum*, il résulte que 1 p. 2000 empêche tout à fait la germination des spores et que 1 p. 8 000 permet une croissance lente et la formation de spores grises. Un *Penicillium* qui produit des sclérotes très facilement, et pour lequel je ne trouve guère d'autre différence avec le *glaucum*, a donné un flocon assez abondant dans la solution employée, qui était aussi à 1 p. 2 000. Le *Sterigmatocystis nigra* et le *Trichoderma viride* ont mieux poussé que la plupart des autres espèces dans la solution. Partout le liquide s'est coloré en brun. Les Dématiées ont aussi donné un mycélium, mais d'ordinaire stérile et peu coloré, quelquefois même en dégénérescence.

CONCLUSIONS

Le nombre et la variété des espèces cultivées et des milieux employés, le contrôle rigoureux des expériences, permettent de tirer de l'étude détaillée qui précède quelques conclusions générales.

La Flore des solutions chimiques est beaucoup plus riche qu'on ne pense et comprend toutes les espèces communes de champignons dont les spores ou le mycélium résistent plus ou moins longtemps à l'air, à l'eau et aux milieux chimiques. Deux des champignons étudiés semblent cependant nouveaux. La diversité des types apparaîtra sans doute d'autant plus que les cultures seront multipliées davantage. Quelques espèces, particulièrement résistantes sous une forme ou sous une autre, dominent de beaucoup dans les semis.

La plupart des espèces mises en expérience se sont montrées remarquablement résistantes : leur présence dans les solutions d'origine l'indiquait déjà. Mais beaucoup ont poussé, parfois abondamment, dans des milieux à propriétés toxiques, ou se sont contentées des liquides les plus pauvres, de l'eau distillée pure, par exemple, ou encore se sont développées sur les parois du tube hors du liquide.

Certaines espèces ou certains groupes de champignons ont une variabilité, une plasticité naturelle très remarquable.

Dans ce cas, la culture en milieux chimiques exagère cette tendance, et l'on obtient, chez les Dématiées par exemple, une diversité morphologique que les Mucédinées n'offrent qu'à un degré beaucoup moindre, et qui sans doute aurait pu être encore augmentée par des cultures plus variées.

Les modifications ont porté surtout sur l'appareil végétatif, bien moins sur le système reproducteur, dont les formes différenciées sont rares dans ces conditions toutes spéciales (aucun périthèce n'a été obtenu). Les formes reproductrices observées dérivent d'ailleurs toutes plus ou moins directement du mycélium.

Les variations morphologiques des champignons apparaissent ici comme des moyens de défense contre des milieux nocifs ou contre la dessiccation.

Si les formes obtenues sont très diverses, les moyens employés par la plante sont assez simples :

1° C'est, d'abord, une longue résistance passive, une conservation de la vitalité sans aucun développement, une vie latente qui peut se prolonger beaucoup, même pour des cellules en apparence délicates (formes-levures, etc.).

2° C'est aussi une modification de structure de la paroi cellulaire : — par épaississement et enkystement ; — par cutinisation à des degrés très divers ; — par gélification des régions externe ou moyenne de la paroi ; — par la combinaison fréquente de ces trois moyens.

3° C'est enfin le changement dans la forme : — par transformation des filaments dans leur ensemble ; — par différenciation de certaines cellules, isolées ou en séries, arrivant à la spore en massif ou à la chlamydospore, qui paraît être la forme de résistance la plus commune ; — par séparation des articles mycéliens donnant, suivant qu'il y a ou non cutinisation, des formes fumagoïdes ou des cellules incolores et isolées, susceptibles de germer (oïdies) ; — par végétation en levure : dans ce dernier cas, et dans quelques formes de végétations fumagoïdes, on peut observer l'absence totale de tout filament mycélien.

Cette végétation en levure semble être très fréquente dans les cultures provenant des milieux chimiques. Aucune de ces levures n'amène de fermentation : mais les unes se reproduisent indéfiniment sous cette forme, quel que soit le milieu, les autres ne sont qu'une phase évolutive de cer-

taines espèces de champignons. Dans ce cas, l'on n'a pas affaire à une vraie végétation en levure, mais à un mycélium bourgeonnant qui reste unicellulaire, et peut très aisément s'allonger en un mycélium normal. La distinction des formes-levures et des conidies est parfois très difficile. Leur multiplication sur le mycélium pluri- ou unicellulaire est souvent prodigieuse.

Les mots de *formes fumagoïdes* doivent être entendus dans le sens le plus large. En effet, les aspects de fumago peuvent avoir des origines diverses (cutinisation de conidies, de formes-levures, de cellules mycéliennes, avec ou sans cloisonnement dans les diverses directions de l'espace; fragmentations mycéliennes, etc.), et l'on doit suivre ces modifications pas à pas pour pouvoir affirmer ces origines, tant les termes ultimes de la transformation sont identiques.

Un mode spécial de reproduction a été observé, et se rattache aux modifications précédentes ; c'est une véritable mue par sortie de la cellule hors de son enveloppe externe fendue, cutinisée ou très épaissie. Cette sortie a lieu sous l'influence du gonflement cellulaire et de la gélification de la membrane moyenne; les enveloppes cellulaires cutinisées se fragmentent ou se retrouvent dans le liquide sous forme de coques vides ; la membrane interne conservée peut s'allonger en filament, mais, d'ordinaire, s'enkyste de nouveau, le milieu étant épuisé ou défavorable.

Ce mode de reproduction se rencontre sur des milieux fort divers, dont quelques-uns le présentent presque constamment, et chez toutes les Dématiées étudiées : il paraît donc très général.

Les modifications sont dues surtout à l'action du milieu. L'influence de l'immersion, de l'absence plus ou moins complète d'oxygène, celle du liquide lui-même (toxique, nutritif, etc.), de la dessiccation, de la concentration, de l'épuisement du substratum, etc., se combinent d'ordinaire pour modifier les formes. Aussi, trouve-t-on de nombreuses différences non seulement entre diverses cultures de la

même espèce, mais encore entre les parties d'une même culture (fond et surface, début et fin de l'expérience, etc.). Les spores immergées ou émergées de la même espèce sont parfois tout à fait différentes.

La dose joue un grand rôle ainsi qu'on pouvait s'y attendre :

La durée des cultures est essentielle à considérer aussi; certaines formes ne se développent qu'à la longue.

L'acidité du milieu a une action très réelle : certaines espèces y sont fort sensibles, d'autres beaucoup moins : mais, pour un même champignon, l'aspect peut être très différent suivant le degré d'acidité (mycélium durable rare dans les milieux très acides, etc.). Dans des sels de composition voisine, le changement d'acide semble agir plus fortement que celui de la base.

L'action du milieu n'est d'ailleurs point la seule : chaque espèce imprime, en effet, aux cultures un caractère spécial. Sans doute la tendance à la variation leur est commune, mais l'une formera de préférence des pycnides, l'autre du mycélium durable, l'autre des formes fumagoïdes ou fragmentées.

Certains milieux donnent une végétation très polymorphe, tandis que sur d'autres on observe une spécialisation des formes : en général, cependant, les cultures sont plutôt caractérisées par la prédominance d'un type que par sa présence exclusive.

Un des points intéressants est l'abondance des formes de passage. Depuis la cellule mycélienne la plus simple jusqu'à la pycnide complexe, on trouve tous les termes. Aucune ligne de démarcation nette entre : cellule mycélienne, cellule cutinisée, chlamydospore, conidie, fumago, mycélium durable, spore en massif, pycnide, etc.

Les filaments mycéliens fragmentés germent comme les spores.

Les fumago ont, comme on l'a vu, les origines les plus diverses.

Les chlamydospores ne sont que du mycélium fragmenté.

La spore en massif se dégage peu à peu du simple renflement mycélien. Elle apparaît, d'autre part, comme une pycnide arrêtée dans son développement. Les formes qu'elle offre sont si diverses dans la même espèce, que l'on peut en rapprocher successivement celle de plusieurs autres genres, et que la plupart des Hyphomycètes ayant pour organe reproducteur normal cette spore en massif semblent pouvoir passer très facilement des uns aux autres.

Quant aux pycnides observées chez une espèce, elles ont offert, suivant le milieu, de très nombreuses différences, portant sur les caractères essentiels des pycnides (mode de développement, existence de filaments extérieurs, taille, couleur, déhiscence, etc., etc.) : on ne peut donc baser sur ces organes une distinction spécifique. Les pycnides se relient intimement à la spore en massif ; les deux peuvent se développer directement aux dépens d'une forme-levure ou d'une conidie semée.

Le mycélium lui aussi se modifie beaucoup et prend des aspects trompeurs, qui ont pu amener à fusionner des espèces différentes (formes dématioïdes, cladosporioïdes, alternarioïdes, etc.). Il faut donc, pour la réunion ou la séparation des espèces, exiger un contrôle sévère, et considérer les apparences extérieures comme tout à fait insuffisantes, les formes de passage reliant entre eux des types parfois très nets et qui, considérés isolément, paraissent fort différents.

L'identité des conditions de culture pour les diverses plantes (milieu, âge, température, etc.) permet aussi de discuter la valeur et les limites de l'espèce étudiée. Pour deux d'entre elles, les rapprochements ou la distinction avec des champignons voisins ont pu être examinés avec d'autant plus de certitude que le point de départ de toutes les cultures était pour chacun une spore unique.

Il semble que la plupart des caractères invoqués pour la

distinction des genres et surtout des espèces du groupe étudié perdent beaucoup de leur valeur dans les conditions spéciales de ce travail. Les espèces décrites sont probablement beaucoup trop nombreuses, car des modifications morphologiques doivent se produire dans la nature sous l'influence des conditions extérieures. Le nombre se réduira à mesure que l'on connaîtra mieux les modes élevés de reproduction.

Pour les deux espèces nouvelles étudiées, la variété des caractères est telle que l'on ne pouvait les rapporter à aucune des formes décrites et spécifiquement limitées. En tout cas, ces deux champignons sont certainement distincts l'un de l'autre.

L'action complexe du milieu et la plasticité de l'espèce, en un mot les diverses causes de variation, amènent à deux résultats inverses, et également importants :

1° La *divergence* des formes dans les cultures d'une même espèce ou quelquefois dans une même culture ;

2° La *convergence* des caractères pour des espèces différentes, qui arrivent, dans les mêmes milieux, à se ressembler si complètement (surtout pour les formes mycéliennes) que la distinction en devient difficile.

EXPLICATION DES PLANCHES

Pour toutes les figures des planches, comme pour toutes les figures dans le texte, les dessins ont été faits à la chambre claire et, pour faciliter les comparaisons, à un grossissement uniforme d'environ 600 diamètres. — Nachet, oc. 1, obj. 7.

Pour les doses des solutions, voy. p. 11, 12, 13.

PLANCHE I

Alternaria polymorpha sp. nov.

Fig. 1. — Cult. dans solut. de chlorhydrate de cocaïne. Forme macrosporioïde et fragmentation mycélienne.

Fig. 2. — Cult. sur pomme de terre. Passage du mycélium durable aux pycnides.

Fig. 3. — Cult. ancienne sur pomme de terre. Pycnides. Formes macrosporioïdes. Levures et stylospores enkystées, etc.

Fig. 4. — Cult. dans solut. de bromure de sodium. Mycélium toruleux, chlamydospores, amas irréguliers.

Fig. 5. — Cult. en cellule dans solut. de glycérophosphate disodique. Formes diverses amenant à la spore en massif.

Fig. 6. — Cult. dans solut. de dextrine. *Alternaria* différenciés, prolongés en filament.

Fig. 7. — Cult. dans solut. de cocaïne. Formes diverses. Passages entre le mycélium durable, la macrospore et l'*Alternaria*.

Fig. 8. — Cult. en cellule dans solut. de glycérophosphate disodique. Gélification des membranes.

Fig. 9. — Cult. dans solut. de mannite. Forme spéciale de mycélium durable.

Fig. 10. — Cult. dans solut. d'acétate de sodium. Sortie des cellules hors de la cuticule.

Fig. 11. — Cult. ancienne dans solut. faible d'acétate de sodium. Stylospores enkystées, pycnides noires, formes macrosporioïdes.

Fig. 12. — Cult. dans solut. d'acide citrique. Formes fumagoïdes.

Fig. 13. — Cult. dans solut. d'acide gallique. Cellules enkystées.

Fig. 14. — Cult. dans solut. de gomme. Passage aux *Alternaria*.

Fig. 15. — Cult. sur pomme de terre. Passages entre le mycélium durable et les *Alternaria*.

PLANCHE II

Alternaria varians sp. nov.

Fig. 1. — Cult. sur gélatine nutritive. Tendance à la végétation toruleuse.

Fig. 2. — Cult. dans solut. d'acétate de sodium. Filaments toruleux (huile); sortie de l'huile.
Fig. 3. — Cult. dans solut. de glycérophosphate monosodique. Macrosporium à forme longue; sortie des cellules.
Fig. 4. — Cult. dans eau glycérinée. Massif fumagoïde.
Fig. 5. — Cult. dans eau glycérinée. Formes macrosporioïdes et mycélium durable.
Fig. 6. — Cult. sur bois de peuplier. Passage des macrospores aux *Alternaria*.
Fig. 7. — Cult. dans solut. de mannite. Filaments moniliformes (huile).
Fig. 8. — Germination dans solut. de carbonate de sodium.
Fig. 9. — Cult. dans solut. de dextrine. Macrospores à divers états.
Fig. 10. — Cult. dans liqueur de Fowler. Forme longue de spores en massif.
Fig. 11. — Cult. en cellule dans eau distillée de menthe. *Alternaria*, série prolongée en filament. Anastomoses.
Fig. 12. — Cult. en cellule dans solut. de glycérophosphate disodique.
Fig. 13. — Cult. dans solut. d'acide gallique. *a*, *b*, *c*, germinations sur ce même milieu.

PLANCHE III

Cladosporium herbarum Link.

Fig. 1. — Cult. ancienne sur gélatine nutritive (mycélium stérile).
Fig. 2. — Forme fumagoïde dans liquide de Raulin.
Fig. 3. — Cult. dans eau glycérinée : chlamydospores et conidies. Germination.
Fig. 4. — Cult. dans eau distillée d'oranger. Conidies en bouquet. Formes immergées.
Fig. 5. — Cult. dans eau distillée de mélisse. Conidies en épi ou isolées. Formes immergées.
Fig. 6. — Cult. jeune dans solut. de dextrine. Tubercules.
Fig. 7. — Cult. jeune dans solut. d'acétate de sodium. Tubercules et chlamydospores.
Fig. 8. — Cult. dans solut. d'acide borique. Mycélium stérile.
Fig. 9. — Cult. dans solut. de soude à 1 p. 100. Formes diverses de conidies.
Fig. 10. — Cult. ancienne dans solut. de dextrine. Chlamydospores, etc.
Fig. 11. — Cult. dans solut. de mannite. Tubercules, chlamydospores, conidies.
Fig. 12. — Cult. dans solut. de bromure de sodium. Passage du mycélium aux conidies.
Fig. 13. — Cult. dans solut. de gaïacol. Forme spéciale de mycélium stérile.

PLANCHE IV

Dematium pullulans de Bary.

Fig. 1. — Végétation ancienne dans le fond d'un tube de cult. sur pomme de terre. — *a*, chlamydospores; *b*, conidies cutinisées sur les filaments; *c*, levures cutinisées; *d*, formes fumagoïdes; *e*, mycélium toruleux; *f*, mycélium stérile.

Fig. 2. — Cult. ancienne sur pomme de terre.
Fig. 3. — Cult. sur carotte. Filaments fumagoïdes.
Fig. 4. — Cult. dans eau glycérinée. Formes fumagoïdes à gros éléments. Stades divers de sortie des cellules.
Fig. 5. — Cult. dans liquide de Raulin. Chlamydospores et formes fumagoïdes.
Fig. 6. — Cult. dans eau distillée de fleurs d'oranger. Levures cutinisées.
Fig. 7. — Cult. dans eau distillée de roses. *a*, chlamydospores; *b*, levûres cutinisées ; *c*, fragmentation du mycélium.
Fig. 8. — Cult. dans solut. d'acide citrique. Forme fumagoïde spéciale : sortie des cellules, germination, etc.
Fig. 9. — Cult. dans solut. d'acide gallique. Enkystement des cellules.
Fig. 10. — Cult. dans solut. d'acide tartrique.
Fig. 11. — Cult. dans solut. de glycérophosphate monosodique.
Fig. 12. — Cult. dans solut. d'acide glycérophosphorique. Fumago typique, sortie des cellules.
Fig. 13. — Cult. dans solut. d'acide pyrogallique. Levures enkystées.
Fig. 14. — Cult. dans solut. de glycérophosphate monosodique. Conidies.
Fig. 15. — Cult. dans solut. de dextrine à 20 p. 100. Formes fumagoïdes. *a*, cuticule vidée.
Fig. 16. — Cult. sur éponge, imprégnée d'acétate de sodium.
Fig. 17. — Cult. dans solut. de glycérophosphate de calcium.

DEUXIÈME THÈSE

PROPOSITIONS DONNÉES PAR LA FACULTÉ

1° Zoologie. — Les Trématodes : organisation, biologie, reproduction, développement, affinités zoologiques.

2° Géologie. — La France : évolution géologique.

Vu et approuvé : Paris, le 4 novembre 1899.

Le Doyen de la Faculté des Sciences,

G. DARBOUX.

Vu et permis d'imprimer, 4 novembre 1899.

Le Vice-Recteur de l'Académie de Paris,

GRÉARD.

Corbeil. Imprimerie Ed. Crété.

L. Planchon, del. Lith. L. Combes Montpellier.

Alternaria polymorpha Sp. nov.

G. Masson, Editeur

L. Planchon, del.

Lith. L. Combes. Montpellier.

Alternaria varians Sp. nov.

G. Masson. Editeur

L. Planchon, del. Lith. L. Combes Montpellier

Cladosporium herbarum Link

G. Masson, Editeur

L. Planchon, del.

Lith. L. Combes Montpellier.

Dematium pullulans de Bary.

G. Masson, Editeur